

سازگاری میسلومی جدایه‌های *Macrophomina phaseolina* در ایران*

فاطمه برزگر مروستی^۱ و ضیاءالدین بنی‌هاشمی^{۲*}

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۱۱)

چکیده

Macrophomina phaseolina عامل بیماری پوسیدگی زغالی، با تنوع میزبانی زیاد می‌باشد که تنوع وسیع فنوتیپی درون گونه‌ای را نشان می‌دهد. از آنجائی که تشخیص هتروژنی درون گونه‌ای این قارچ بر اساس فاکتورهای فنوتیپی محدود است. بررسی گروه‌های سازگار میسلومی (MCG's) به عنوان روش مناسبی برای تعیین تنوع درون گونه‌ای معرفی شده است. در این تحقیق سازگاری میسلومی ۱۱۳ جدایه *M. phaseolina* از مناطق مختلف کشور و میزبان‌های مختلف بررسی شد. بر اساس نتایج، ۳۳ گروه سازگار میسلومی شناسایی شد. که نشان دهنده وجود تنوع ژنتیکی زیاد در میان جدایه‌های قارچ بود. همچنین در این مطالعه ارتباطی بین گروه‌های سازگار میسلومی شناسایی شده با پراکنش جغرافیایی جدایه‌های قارچی و میزبان آن‌ها وجود نداشت. تحقیق حاضر اولین مورد از بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌های *M. phaseolina* در ایران با استفاده از شناسایی گروه‌های سازگاری میسلومی است.

کلیدواژه: گروه‌های سازگار میسلومی، تنوع ژنتیکی، *Macrophomina phaseolina*، پوسیدگی زغالی.

* بخشی از رساله‌ی دکتری نگارنده‌ی نخست به راهنمایی دکتر ضیاءالدین بنی‌هاشمی ارائه شده به دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

** مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: zia1937@gmail.com

۱. دانشجوی دکتری، بخش گیاهپزشکی، دانشگاه شیراز.

۲. استاد، بخش گیاهپزشکی، دانشگاه شیراز.

Mycelial compatibility groups of *Macrophomina phaseolina* in Iran

F. Barzegar Marvasti¹ and Z. Banihashemi^{2*}

(Received: 23.12.2018; Accepted: 1.6.2019)

Abstract

The charcoal root disease caused by *Macrophomina phaseolina* is necrotroph pathogen with wide host range and showed various phenotypic intraspecies variability. Considering the difficult identification of intraspecies heterogeneity on the basis of phenotypic factors, compatible mycelium groups were introduced as an appropriate tool for classification and intraspecies heterogeneity distinction. In the present study, mycelial compatibility groups (MCGs) were investigated among a total of 112 isolates of *M. phaseolina* from different hosts in different regions of Iran. A total of 33 different MCGs were identified, showing the existence of high genetic diversity among the fungal isolates. There was no relationship between mycelial compatibility grouping, geographic distributions and host origins of the isolates. This is the first report on the compatible mycelium groups of *M. phaseolina* isolates in Iran.

Keywords: mycelial compatibility groups, *Macrophomina phaseolina*, genetic diversity, charcoal root

*Corresponding author's E-mail: zia1937@gmail.com

1. Phd student, Department of Plant Protection, School of Agriculture, Shiraz University.

2. Professor, Department of Plant Protection, School of Agriculture, Shiraz University.

مقدمه

Macrophomina phaseolina می‌باشد که فرم جنسی آن هنوز مشخص نشده است (Crous et al. 2004). به *M. phaseolina*، نام‌های مترادف دیگری نیز نسبت داده شده که می‌توان به *Macrophoma canahoci* و *Macrophoma conjani* و *Rhizoctonia bataticola* را اشاره کرد (Mihail 1992). با وجود این که در گذشته پنج گونه برای جنس *Macrophomina* توصیف شده بود (MycoBank, accessed November 2013). مطالعات جدید فیلوژنتیکی این جنس را یک جنس تک تپ پیشنهاد داده است که دارای یک گونه است (Phillips et al. 2013). اما در تحقیقی که اخیراً انجام شده است، از توالی‌های چندژنی برای آزمایش نمونه بزرگی از جدایه‌ها که نماینده میزبان‌های مختلف و قاره‌های مختلف بودند، استفاده شد و یک گونه‌ی جدید *M. pseudophaseolina* از سنگال معرفی شد و این باور که همه جدایه‌ها نماینده یک گونه منفرد هستند را به چالش کشاند و این نظریه را که ممکن است بیش از یک تاکسون عامل پوسیدگی زغالی باشد را تقویت کرد. همچنین ارتباط پایداری بین ژنوتیپ، میزبان و موقعیت جغرافیایی پیدا نشد و هر دو گونه حتی بر روی یک میزبان و در یک مکان با هم وجود داشتند. این گونه‌ی جدید در حال حاضر تنها در سنگال شناخته شده است و تحقیقات بیشتری برای تعیین قدرت بیماری‌زایی در مقایسه با *M. phaseolina* و پراکنش جغرافیایی آن بایستی انجام گیرد (Sarr et al., 2014).

با وجود این که *M. phaseolina* تولید مثل جنسی ندارد، در مطالعات انجام شده، تنوع ژنتیکی بالایی در جمعیت‌های آن گزارش شده است (Su et al. 2001). در هنگام جوش خوردن ریشه‌ها امکان تشکیل هتروکاریون‌ها پس از تفکیک و نوترکیبی میتوزی وجود دارد و بدین ترتیب تنوع در جمعیت‌های *M. phaseolina* ایجاد

یکی از عوامل مهم بیماری‌زایی قارچی با دامنه‌ی وسیع میزبانی که بیش از ۵۰۰ گونه گیاهی در ۱۰۰ خانواده را آلوده می‌نماید، بیمارگر خاکزاد *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid می‌باشد که عامل بیماری پوسیدگی زغالی در محصولات چوب سوبا، آفتابگردان، سورگوم، سیب زمینی، پنبه، جالیز، ذرت، کتان، گندم، کنجد، لوبیا، بادام زمینی و گلرنگ ایجاد می‌کند. علائم ابتدایی پوسیدگی زغالی در گیاهان جوان به صورت ایجاد لکه‌های سیاه و نامنظم می‌باشد (Jana et al. 2003; Su et al. 1998) که از پایه‌های لپه‌ها شروع شده و به سمت ساقه‌ها گسترش می‌یابد و در نهایت موجب مرگ گیاه می‌شود. گیاهان بالغ دچار پژمردگی می‌شوند و سیستم آوندی به دلیل تولید ریزسختینه، تیره یا خاکستری می‌شود. علائم مشخص بیماری شامل لکه‌های تیره یا خاکستری کشیده روی برگ‌های بالغ، تشکیل ریزسختینه‌ها بر روی ساقه، کاهش توان گیاه و در نهایت کاهش عملکرد می‌باشد. ریزسختینه‌ها منبع اولیه‌ی مایه بیماری‌زا برای آلودگی ریشه‌ها هستند، تا عمق ۲۰ سانتی‌متری خاک یافت می‌شوند و بسته به شرایط محیطی به مدت دو تا ۱۵ سال در خاک و بقایای گیاهی بقا می‌یابند (Cook et al. 1973; Papavizas 1977; Campbell & Van der Gaay 1993). بیماری پوسیدگی زغالی قادر است، ۲۳ تا ۱۰۰ درصد محصول گیاه را نابود کند. آب و هوای گرم و خشک و دمای بالای ۲۸ درجه‌ی سانتیگراد به مدت دو الی سه هفته بعد از کاشت، بیماری را توسعه می‌دهد.

جنس ماکروفومینا از نظر رده‌بندی مولکولی متعلق به رده‌ی Dothideomycetes، راسته‌ی Botryosphaerales و خانواده‌ی Botryosphaeriaceae و تنها گونه‌ی آن

می‌شود (Carling et al 1988). به دلیل مرگ سلولی و از بین رفتن سلول‌های هتروکاریوتیک پس از ترکیب شدن دو پرگنه این ناحیه به رنگ قهوه‌ای تیره یا سیاه دیده می‌شود (Smith et al 2006, Suzaki et al 2008). واکنش ناسازگاری نیز به عنوان یک پدیده در تعداد زیادی از قارچ‌ها بویژه در قارچ‌های رشته‌ای اتفاق می‌افتد (Rayner & Todd, 1979; Worrall 1997)

بنابراین تعیین گروه‌های سازگار رویشی در تقسیم بندی جمعیت‌های درون یک گونه به زیر گروه‌های معین می‌باشند و گروه‌بندی‌های متعدد دلالت بر افراد متفاوت از نظر ژنتیکی دارد (Kohn et al 1991, Wang et al 1998). ساختار جمعیت و جریان ژنی اجزای مهم تنوع ژنتیکی هستند که سطح تنوع ژنتیکی و ارتباط بین جمعیت‌ها را توصیف می‌کنند. سیستم سازگاری و ناسازگار رویشی، روشی سریع و مؤثر برای بررسی تنوع درون گونه‌ای می‌باشد، بنابراین از این روش برای بررسی ساختار جمعیت و پتانسیل جریان ژنی در قارچ‌های مختلف استفاده شده است (Glass & Kuldau 1992, Leslie et al 1993, Smith et al 1997) ولی این روش برای تجزیه و تحلیل استرین‌هایی که در گونه‌های بیولوژیکی مختلف قرار می‌گیرند و همچنین برای بررسی اتفاقاتی که در سطوح بالاتر از گونه رخ می‌دهند، مناسب نیست. جدایه‌های سازگاری که در یک MCG قرار می‌گیرند در حقیقت به یک دودمان کلونی تعلق دارند (Kohn et al. 1991). از این روش برای شناسایی تنوع درون گونه‌ای در بین جمعیت‌های *S. sclerotiorum* تحت شرایط مزرعه‌ای در تمام نقاط دنیا بر اساس گروه‌های سازگار میسلیومی انجام گرفته است (Kohn et al. 1990). تنوع بیمارگر در مناطق جغرافیایی با استفاده از آزمون سازگاری میسلیومی نیز توصیف شده است. دو جدایه در صورتی سازگار محسوب

می‌شود. به رغم دامنه‌ی میزبانی وسیع بیمارگر، جنس *Macrophomina* تنها شامل یک گونه *M. phaseolina* بوده و تلاش‌ها برای تشخیص زیرگونه‌های آن بر مبنای اندازه اسکلروت‌ها، خصوصیات کشت، تغییر در جمعیت‌های بیمارگر در خاک در پاسخ به تناوب و تنوع در بیماری‌زایی، به دلیل تنوع وسیع درون گونه یا مشکلات در کمی کردن صفات به شکست انجامیده‌اند (Dhingra and Sinclair, 1972; Cloud and Rupe, 1991; Pearson et al. 1986, 1987)

سیستم سازگاری و ناسازگاری میسلیومی یا همان گروه‌های سازگار میسلیومی (Mycelial Compatibility Groups, MCGs) به عنوان یک نشانگر مرفولوژیکی سریع و مؤثر برای شناسایی تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای در بین بسیاری از جمعیت قارچ‌های بیمارگر گیاهی در نقاط مختلف جهان مورد استفاده قرار گرفته است (Hambleton et al. 2002; Kull et al., 2004; Leslie, 1993; Malva' rez et al., 2007; Schafer & Kohn 2006). این پدیده روی محیط کشت حاوی آگار قابل بررسی است. در این سیستم اگر دو جدایه جفت شده تشکیل یک پرگنه را بدهند جدایه سازگار محسوب می‌شوند. در حقیقت در این سیستم عمل آناستوموز ریشه‌ای بین جدایه‌های سازگار اتفاق می‌افتد و این جدایه‌ها قادر به تشکیل یک کلونی یک دست می‌باشند که در یک گروه سازگار رویشی (Mycelial Compatibility Groups=MCGs) قرار می‌گیرند. ناسازگاری میسلیومی برعکس سازگاری میسلیومی بوده به این صورت که زمانی که هیف‌های دو جدایه با هم تلاقی داده می‌شوند قادر به ترکیب با یکدیگر و تشکیل پرگنه‌ی واحد نیستند (Glass & Kudau 1992, Leslie 2000, Strom & Bushley 2016). در ناحیه تماس دو پرگنه در حالت ناسازگاری میسلیومی خط مشخصی به نام ناحیه سد یا ناحیه ممانعت تشکیل

قارچ‌ها می‌باشد. با توجه به این که تاکنون تحقیقی در مورد بررسی سازگاری میسلیومی جدایه‌های *M. phaseolina* عامل پوسیدگی زغالی در ایران انجام نگرفته است، در این تحقیق، سازگاری میسلیومی و تعیین گروه‌های سازگار رویشی در جمعیت‌های *M. phaseolina* بررسی شد. با توجه به این که تاکنون تحقیقی در مورد بررسی سازگاری میسلیومی جدایه‌های *M. phaseolina* عامل پوسیدگی زغالی در ایران انجام نگرفته است، در این تحقیق، سازگاری میسلیومی و تعیین گروه‌های سازگار رویشی در جمعیت‌های *M. phaseolina* بررسی شد.

مواد و روش‌ها

جداسازی قارچ

نمونه‌های مشکوک به بیماری پوسیدگی زغالی با علائم پژمردگی و وجود نقاط سیاه رنگ در طوقه و ساقه گیاهان میزبان، از مناطق مختلف کشور جمع آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌های آلوده ابتدا کاملاً با آب شستشو داده شدند تا گل ولای و آلودگی‌های سطحی آن‌ها حذف شد. سپس با هیپوکلریت سدیم یک درصد ضد عفونی گردیدند و قطعاتی از بافت آلوده درون تشتک‌های پتری روی محیط کشت آب آگار یا عصاره‌ی سیب زمینی دکستروز آگار (۳۰۰ گرم سیب زمینی، ۱۶ گرم آگار، ۲۰ گرم گلوکز برای یک لیتر محیط) که پس از اتوکلاو به آن ۲۵۰ پی‌پی‌ام در لیتر کلرامفنیکل اضافه شد. به منظور رشد قارچ، تشتک‌های پتری در دمای ۲۸-۳۵ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. خالص‌سازی جدایه‌ها به روش نوک ریشه انجام شد.

شناسایی بیمارگر

شناسایی قارچ بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی

می‌شوند که ریشه‌های آن‌ها تولید آناستاموز ریشه‌ای کنند. نوترکیبی ژنتیکی ممکن است در حین تبادل هسته اتفاق افتد که عناصر هسته از یک جدایه به جدایه دیگر مهاجرت می‌کنند (Mihail & Tylor 1995). این مراحل به عنوان نوترکیبی شبه جنسی شناخته شده است که عمدتاً در گونه‌هایی که تولید مثل غیرجنسی دارند و یا هموتالیک هستند، معمول است. در طبیعت، زمانی که دو جدایه در یک زمان و یک مکان مشخص با هم وجود دارند ایجاد هتروکاریون امکان دارد (Zandoki et al. 2005). می‌هیل و تیلور (Mihail & Tylor 1995) نشان دادند که جدایه‌های *M. phaseolina* از مناطق جغرافیایی مختلف زمانی که با هم جفت شدند به آسانی همجوشی ریشه‌ای بین آن‌ها رخ می‌دهد. در بررسی دیگری که توسط کاندس (Csondes 2011) انجام گرفت، سازگاری میسلیومی بین ۵۳ جدایه *M. phaseolina* که از ذرت، آفتاب‌گردان و سویا از مناطق مختلف مجارستان به منظور تعیین تنوع در بین جدایه‌ها انجام شد، اکثر جدایه‌ها با هم سازگار بودند و حتی جدایه‌هایی از مناطق دور از هم با هم سازگار بودند که نشان می‌دهد ژنوتیپ مشابه و یا یکسان ممکن است با بذر و محصولات آلوده به ریزسختینه قارچ به مناطق دیگر انتقال یابند.

مطالعه تنوع ژنتیکی در بیمارگرهای گیاهی از زوایای مختلف حایز اهمیت است. از دلایل عمده موفقیت ناچیز ما در مدیریت بیماری‌های گیاهی، به آگاهی اندک ما از ساختار ژنتیک جمعیت‌های بیمارگر بر می‌گردد. با توجه به دامنه‌ی میزبانی وسیع و ایجاد خسارت قابل توجه این قارچ در میزبان‌های مختلف، تاکنون مطالعه جامعی در ساختار جمعیت این قارچ انجام نگرفته است. گروه‌های سازگار میسلیومی به عنوان یک نشانگر مورفولوژیکی سریع و مؤثر برای شناسایی تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای

جدول ۱. جدایه‌های مورد بررسی

Table 1. Isolats of *Macrophomina phaseolina* in this study

source (Province)	Host	Isolates	Source (Province)	Host	Isolates
Fars	plum	MI36	Fars	bean	MI1
Fars	rosemary	MI37	Fars	alfalfa	MI2
Fars	orange	MI38	Fars	tomato	MI3
Kerman	sesame	MI39*	Fars	pepper	MI4
Kerman	sesame	MI40	Fars	pepper	MI5
Kerman	sesame	MI41	Fars	radish	MI6
Kerman	jujube	MI42	Fars	longmelon	MI7
Khozestan	bean	MI43*	Fars	longmelon	MI8
Khozestan	bean	MI44	Fars	longmelon	MI9
Khozestan	bean	MI45	Fars	longmelon	MI10
Khozestan	bean	MI46	Fars	longmelon	MI11
Khozestan	bean	MI47*	Fars	longmelon	MI12
Khozestan	mung bean	MI48	Fars	longmelon	MI13
Khozestan	mung bean	MI49	Fars	longmelon	MI14
Khozestan	longmelon	MI50*	Fars	longmelon	MI15
Khozestan	sunflower	MI51*	Fars	longmelon	MI16
Khozestan	okra	MI52	Fars	cantaloupe	MI17
Khozestan	okra	MI53	Fars	cantaloupe	MI18
Khozestan	okra	MI54	Fars	cantaloupe	MI19
Khozestan	okra	MI55	Fars	cantaloupe	MI20
Khozestan	okra	MI56	Fars	cantaloupe	MI21
Khozestan	olive	MI57*	Fars	cantaloupe	MI22
Khozestan	olive	MI58*	Fars	cantaloupe	MI23
Hormozgan	longmelon	MI59	Fars	cantaloupe	MI24
Hormozgan	longmelon	MI60	Fars	cantaloupe	MI25
Hormozgan	longmelon	MI61	Fars	cantaloupe	MI26
Hormozgan	longmelon	MI62	Fars	cantaloupe	MI27
Hormozgan	longmelon	MI63	Fars	cantaloupe	MI28
Hormozgan	longmelon	MI64	Fars	cantaloupe	MI29
Hormozgan	longmelon	MI65	Fars	cantaloupe	MI30
Hormozgan	longmelon	ML66	Fars	cucumber	M31
Hormozgan	longmelon	MI67	Fars	sunflower	M32
Hormozgan	cantaloupe	MI68	Fars	okra	MI33
Hormozgan	eggplant	MI69	Fars	olive	MI34

جدایه‌هایی که با علامت ستاره مشخص شده‌اند، جدایه‌های گرفته شده از کلکسیون بخش گیاه‌پزشکی دانشگاه تربیت مدرس می‌باشند

The isolates marked with a star sign are isolates taken from the collection of the Tarbiat Modarres Department of plant protection

کاج و محیط آب آگار (WA) مورد بررسی قرار گرفت (Smith et al. 1996).

(ماکروسکوپی و میکروسکوپی)، از جمله سرعت رشد پرگنه، رنگ پرگنه قارچی، مشخصات ریزسختینه و ریشه انجام گرفت.

بررسی گروه‌های سازگار میسلیمی (MCGs)

برای آزمون سازگاری میسلیمی، از ۱۱۳ جدایه‌ی قارچی که از میزبان‌های مختلف و از مناطق جغرافیایی مختلف جداسازی شده بودند، استفاده شد (جدول ۱). با

ساختار پرگنه و تولید رنگدانه بعد از سه روز که روی PDA در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد رشد کردند، مشاهده شد. مشخصات ریخت‌شناختی بر اساس اسپورزایی پرگنه بر روی محیط برگ سترون سوزنی برگ

جدول ۱. جدایه‌های مورد بررسی *Macrophomina phaseolina*Table 1. Isolates of *Macrophomina phaseolina* in this study

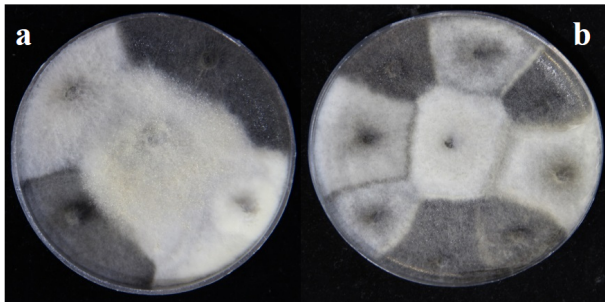
Source (Province)	Host	Isolates	Source (Province)	Host	Isolates
Isfahan	turnip	MI70*	Fars	plum	MI35
Golestan	soybean	MI94*	Isfahan	watemelon	MI71*
Golestan	soybean	MI95*	Isfahan	longmelon	MI72
Golestan	soybean	MI96*	Isfahan	cantaloupe	MI73*
Golestan	soybean	MI97*	Isfahan	cucumber	MI74*
Golestan	soybean	MI98*	Isfahan	sunflower	MI75*
Golestan	soybean	MI99*	Isfahan	sunflower	MI76*
Golestan	soybean	MI100*	Isfahan	sesame	MI77*
Golestan	soybean	MI101*	Semnan	longmelon	MI78*
Golestan	soybean	MI102*	Semnan	longmelon	MI79*
Golestan	soybean	MI103*	Semnan	longmelon	MI80
Golestan	soybean	MI104*	Semnan	longmelon	MI81*
Golestan	soybean	MI105*	Semnan	longmelon	MI82
Golestan	kiwi fruit	MI106*	Semnan	longmelon	MI83
Golestan	soybean	MI107*	Semnan	longmelon	MI84
Khorasan	bean	MI108*	Semnan	longmelon	MI85
Khorasan	tomato	MI109*	Semnan	longmelon	MI86
Khorasan	longmelon	MI110*	Semnan	longmelon	MI87
Khorasan	cantaloupe	MI111*	Semnan	longmelon	MI88
Khorasan	cucumber	MI112*	Semnan	longmelon	MI89
Khorasan	sunflower	MI113*	Semnan	longmelon	MI90
			Golestan	Soybean	MI91*
			Golestan	Soybean	MI92*
			Golestan	Soybean	MI93*

جدایه‌هایی که با علامت ستاره مشخص شده‌اند، جدایه‌های گرفته شده از کلکسیون بخش گیاه‌پزشکی دانشگاه تربیت مدرس می‌باشند

The isolates marked with a star sign are isolates taken from the collection of the Tarbiat Modarres Department of plant protection

برای مطالعه سازگاری میسلومی، در هر گروه همه جدایه‌ها به صورت دو به دو در برخورد مستقیم با همدیگر بر روی محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز-آگار قرار داده شدند. از هر جدایه، بلوکی به قطر ۵ میلی‌متر از گوشه محیط یک هفته‌ای خالص که دارای ریزسختینه بود را به تشتک پتری هشت سانتی‌متری حاوی ۱۰ میلی لیتر محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز-آگار انتقال داده شد. به این ترتیب یک جدایه با خود و با کلیه جدایه‌های دیگر در آن گروه تلاقی داده شد. سپس تشتک‌های پتری در تاریکی در ۲۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. آزمون تلاقی بین جدایه‌ها در دو تکرار انجام گرفت و نوع

توجه به تعداد زیاد جدایه‌ها، انجام تمام تلاقی‌های ممکن بین تمام جدایه‌ها کاری وقت گیر بود. بنابراین جهت کاهش تعداد تلاقی‌ها، ابتدا جدایه‌های قارچ بر اساس منطقه جغرافیایی گروه بندی شدند. به این ترتیب چهار گروه تعیین شد. گروه یک شامل ۴۲ جدایه، مربوط به استان‌های فارس و کرمان (MI1-MI42)، گروه دو شامل ۲۷ جدایه، مربوط به استان‌های هرمزگان و خوزستان (MI43-MI69)، گروه سوم شامل ۲۱ جدایه، مربوط به استان‌های سمنان و اصفهان (MI70-MI90) و گروه چهارم شامل ۲۳ جدایه، مربوط به استان‌های خراسان و گلستان (MI91-MI113) بودند (جدول ۱).



شکل ۱. واکنش‌های سازگاری و ناسازگاری در بین جدایه‌های *Macrophomina phaseolina*. (a) واکنش سازگاری بین جدایه‌ی مرکزی با دو جدایه‌ی خاکستری رنگ واقع در مجاور آن. (b) واکنش ناسازگاری در بین جدایه‌ها و حالت‌های مختلف ناحیه سد

Fig1. Mycelial interactions between isolates of *Macrophomina phaseolina* (a) Compatible reaction between central isolate and two other grey isolates located in its vicinity. (b) Incompatible reaction between isolates and barrage zone various types

ناسازگاری مختلف متفاوت بود. حالت دیگر به صورت ناحیه شفاف بین دو جدایه ناسازگار مشاهده شد گاهی به دلیل تولید متابولیت‌های ثانویه توسط برخی جدایه‌ها مانع از رشد میسلیم‌های جدایه دیگر می‌شوند (Akinsanmi et al 2008). حالت دوم یعنی تولید نوار تیره در بین جدایه‌های ناسازگاری که مورد مطالعه بودند بیشتر مشاهده شد (شکل ۱).

در گروه یک که شامل ۴۳ جدایه از استان‌های فارس و کرمان بود، چهار گروه سازگاری میسلیومی تک عضوی (با جدایه‌های نماینده: MI1, MI2, MI37, MI42 و ۱۳ گروه سازگاری میسلیومی چند عضوی (با جدایه‌های نماینده: MI6, MIK7, MI10, MI16, MI18, MI21, MI23, MI41, MI26, MI31, MI38, MI39, MI40, MI41) شناسایی شدند.

در گروه دوم که شامل ۲۷ جدایه از استان‌های خوزستان و هرمزگان بود، پنج گروه سازگاری میسلیومی تک عضوی (با جدایه‌های نماینده: MI50, MI62, MI69)

سازگاری، هفت روز پس از تلاقی مشخص شد. ارتباطی که به عنوان سازگاری در نظر گرفته می‌شود، زمانی است که ریشه‌ها به داخل یکدیگر رشد می‌کنند بدون این که مرزی قابل مشاهده ایجاد کنند و یک پرگنه پایدار تشکیل شود. همچنین ارتباط ناسازگاری زمانی است که باندهای مشخص بین پرگنه‌های جدایه‌های مختلف تشکیل شود و بعضی از ریشه‌ها از بین روند (Kohn et al. 1990).

پس از بررسی نتایج تلاقی‌ها، جدایه‌های سازگار با هم در یک گروه قرار داده شدند. بدین ترتیب هر گروه به زیر گروه‌های میسلیومی تفکیک شد. از هر زیر گروه سازگار میسلیومی، جدایه‌ای که با تمام و یا با اکثریت اعضای آن زیر گروه سازگار بود به عنوان جدایه‌ی نماینده آن زیر گروه انتخاب گردید. سپس جدایه‌های نماینده‌ی زیر گروه‌های سازگار میسلیومی مختلف با یکدیگر تلاقی داده شدند. در صورتی که جدایه‌های نماینده از دو زیر گروه با هم سازگار بودند، همه‌ی جدایه‌های سازگار با آن دو نیز در یک گروه قرار گرفتند.

نتایج

تلاقی جدایه‌ها روی محیط کشت سیب زمینی-دکستروز-آگار انجام شد که منجر به یکی از دو واکنش سازگاری یا ناسازگاری شد. در واکنش سازگاری میسلیوم دو جدایه به سمت هم رشد کردند و تشکیل پرگنه‌ی واحدی را دادند. در واکنش ناسازگاری میسلیومی منطقه سد یا ممانعت بین پرگنه‌ی دو جدایه‌ی ناسازگار تشکیل شد که سه حالت واکنش ناسازگاری در بین جدایه‌های ناسازگار مشاهده شد. حالت اول به صورت نوار سفید رنگ ضخیمی از میسلیوم مشاهده شد، حالت دوم به صورت نوار تیره رنگ در محل تماس دو پرگنه مشاهده شد که ضخامت این نوار سیاه رنگ در واکنش‌های

مخلوط هتروژنی از گروه‌های سازگار رویشی است. ناسازگاری میسلومی و عدم ترکیب هیفی بین جدایه‌ها نشان دهنده هتروژنی درون گونه‌ای می باشد (Suzaki 2000). که به دلیل اختلاف ژنتیکی در لوکوس *het* منجر به ناسازگاری بین جدایه‌ها می‌شود (Glass et al 2000) ناسازگاری میسلومی به صورت منطقه سد بعد از هفت روز از کشت متقابل جدایه‌های قارچی ایجاد شد. شدت واکنش ناسازگاری بین جدایه‌ها متنوع بود. در برخی جدایه‌ها دو پرگنه به وسیله نوار سیاه رنگی از هم جدا می‌شدند که عرض این نوار در همه جدایه‌ها یکسان نبود. در برخی دیگر در محل تماس دو پرگنه میسلوم‌های دو جدایه متقابل در هم تنیده و به صورت کلافی برجسته مشاهده می‌شد که در این حالت نیز ضخامت این ناحیه به صورت‌های متفاوت مشاهده شد. گاهی هم بین دو پرگنه ناحیه خالی از میسلوم دیده می‌شد. تنوع نسبی در فنوتیپ واکنش‌های ناسازگاری بین جدایه‌ها در قارچ‌های مختلف نیز گزارش شده است (Brasier 1984, Micali & Smith 2003, Hemmati et al 2009, Inoue et al 2011, Liu et al 2018) علت این تنوع را به یک ژن منفرد، متفاوت در بین لوکوس‌های تعیین کننده ناسازگاری میسلومی در قارچ‌ها نسبت داده‌اند (Anagnostakis et al 1997). همتی و همکاران (۲۰۰۹) علت ضعیف بودن واکنش ناسازگاری در بین جدایه‌های *S. sclerotiorum* را تغییر در جایگاه‌های ژنی کنترل کننده سازگاری میسلومی بیان نمودند. عواملی مانند جهش و نوترکیبی ممکن است در تغییر این جایگاه‌ها نقش داشته باشند. تولید متابولیت ثانویه در تعدادی از قارچ‌ها، مانع از تماس دو پرگنه و منجر به واکنش ناسازگاری شده است (Akinsanmi et al 2008) علت‌های مختلفی برای تنوع فنوتیپی در واکنش‌های ناسازگاری وجود دارد، اما عواملی که تشکیل منطقه سد را کنترل

MI63, MI68, و پنج گروه سازگار میسلومی چند عضوی (با جدایه‌های نماینده: MI43, MI48, MI57, MI59, MI60) تشخیص داده شدند.

دز گروه سوم که شامل ۲۱ جدایه از استان‌های اصفهان و سمنان بود، ۹ گروه سازگاری میسلومی تک عضوی (با جدایه‌های نماینده: MI71, MI72, MI73, MI74, MI77, MI78, MI79, MI80, MI81 و ۳ گروه سازگار میسلومی چند عضوی (با جدایه‌های نماینده: MI70, MI83, MI90) تشخیص داده شدند.

در گروه چهارم که شامل ۲۳ جدایه از استان‌های خراسان و گلستان بود، چهار گروه تک عضوی (با جدایه‌های نماینده: MI94, MI105, MI110, MI112) و شش گروه چند عضوی (با جدایه‌های نماینده: MI95, MI97, MI99, MI101, MI108, MI111) تشخیص داده شدند.

بعد از اینکه نماینده‌ی زیر گروه‌های سازگاری میسلومی تعیین گردید، جدایه‌های نماینده‌ی هر یک از زیرگروه‌ها نیز با یکدیگر تلاقی داده شدند. در نتیجه ۱۱۳ جدایه *M. phaseolina* جمع آوری شده از میزبان‌های متفاوت و مناطق مختلف ایران در ۳۳ گروه سازگاری میسلومی قرار گرفتند. گروه‌ها با جدایه‌های نماینده (MI1, MI2, MI7, MI16, MI18, MI21, MI23, MI25, MI26, MI31, MI38, MI39, MI43, MI48, MI50, MI59, MI60, MI62, MI63, MI69, MI70, MI71, MI74, MI77, MI81, MI83, MI90, MI94, MI97, MI99, MI101, MI105, MI110) به ترتیب به اسامی MCG1 تا MCG33 نام‌گذاری شدند (جدول ۲).

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که جمعیت *M. phaseolina* از مناطق مختلف کشور و میزبان‌های مختلف تنوع درون گونه‌ای بالایی را دارا است و جمعیت این قارچ

جدول ۲. گروه‌های سازگار میسلیمی در جدایه‌های *Macrophomina. Phaseolina*

Table 2. Mycelial compatibility groups (MCGs) of *Macrophomina. Phaseolina*

MCG	Representative isolates	Number of isolates	Host ¹	Source (Province)
MCG1	MI1	4	b	Fars-Khozestan
MCG2	MI2	9	a, se, l,ca,j	Fars-Golestan-Khorasan
MCG3	MI7	7	l, su, ol,tu,ca	Fars-Khozestan-Kerman
MCG4	MI16	7	l, p, se	Fars-Isfahan-Khozestan-Semnan
MCG5	MI18	9	su, ca, ok, ol,	Fars-Khozestan
MCG6	MI21	10	ca, l, su, to, m	Fars-Golestan
MCG7	MI23	4	l	Fars-Isfahan
MCG8	MI25	9	to, se, l	Khozestan-Golestan
MCG9	MI26	6	so, ok, cu, ca	Fars-Golestan-Kerman
MCG10	MI31	10	ra, so, l, pe, su, cu	Fars-Kerman-Semnan-khozestan-Isfahan
MCG11	MI38	7	or, ol, ca, l	Fars-Hormozgan
MCG12	MI39	5	b, se, l, ca	Isfahan-Fars-Khozestan
MCG13	MI43	12	b, ok, so, l,ol	Semnan-Golestan-Fars-Khozestan
MCG14	MI48	12	so, m, pe,ok	Khozestan-Golestan-Fars
MCG15	MI50	4	l, se, to,j, a	Fars-Khozestan
MCG16	MI59	8	l, mu, su, b, se	Fars-Hormozgan-Kerman
MCG17	MI60	12	l, to, pe, b, mu,j,a,	Fars-Hormozgan-Khorasan-Kerman
MCG18	MI62	2	se, l	Isfahan-Hormozgan-
MCG19	MI63	11	l, se, pu	SemnanHormozgan-Fars-
MCG20	MI69	3	eg, b, j, l	Fars-kerman-Khorasan-Semnan
MCG21	MI70	13	tu, su, ol, so, l, k,	Golestan-Khozestan-Fars-Hormozgan-Isfahan
MCG22	MI71	3	w, e, l	Isfahan-Hormozgan-Khorasan
MCG23	MI74	5	cu, so, ca	GolestanFars
MCG24	MI77	17	pe, b, l, su, ok, mu	Fars-Hormozgan-Khorasan-Kerman-Isfahan
MCG25	MI81	3	l, ro	Fars-Hormozgan
MCG26	MI83	10	l, mu, so, ok	Khozestan-Golestan-Semnan-Fars
MCG27	MI90	7	l, se	Fars-Hormozgan-Kerman
MCG28	MI94	8	so, eg, b, l	Golestan-Semnan-Khorasan-Hormozgan
MCG29	MI97	3	so, l	Semnan-Golestan
MCG30	MI99	12	so, su, tu, ol, l,k	Golestan-Semnan-Khorasan
MCG31	MI101	8	so, l, mu,	Semnan-Fars-Isfahan-Khozestan
MCG32	MI105	3	l	Fars-Semnan
MCG33	MI110	7	eg, l, w	Hormozgan-Golestan-Semnan

1. b:bean, l:longmelon,so:soybean,su:sunflower,se:sesame, m: mung bean, ok: okra: ol:olive, or: orang, ca: cantaloupe, cu: cucumber, p: plum, pe: pepper, ro: rozemary, ra:radish, tu:turnip, to:tomato, k: kiwi fruit, j: jujube, w: watermelon, a: alfalfa, eg: eggplant

ترکیب دو جدایه‌ای که تلاقی داده می‌شوند، متفاوت باشد (Inoue et al 2011). ممکن است عملکرد بیولوژیکی ژن‌های *vic* در بین لوکوس‌ها متفاوت باشد. به طوری که تفاوت آلی در یک یا بیش از یک لوکوس *vic* در دو جدایه باعث ایجاد فنوتیپ متفاوت ناسازگاری در ناحیه تماس میسلیمی دو جدایه می‌شود (Smith et al 2006). در این پژوهش از روش تعیین گروه‌های سازگار

می‌کنند ناشناخته است (Akinsanmi et al 2008). ضخامت ناحیه سد ممکن است با تعداد و تنوع ژن‌های ناسازگاری که در بین جدایه‌ها متفاوت هستند، مرتبط باشد (McCallum et al 2004). ممکن است کارایی مسیرهای پیام دهی برای واکنش‌های ناسازگاری در بین جدایه‌ها متفاوت باشد و یا در اثر واکنش‌های ناسازگاری، تعدادی از واکنش‌های سلولی راه اندازی شود که بسته به

گرفتند. این حالت نشان می‌دهد که تغییرات ژنتیکی در داخل این زیر جمعیت‌ها در حال رخ دادن است که این تنوع می‌تواند در نتیجه انتخاب تنوع‌گرا ایجاد شده باشد وجود پدیده انتخاب تنوع‌گرا در جمعیت‌ها باعث انتخاب ژنوتیپ‌های مختلف در شرایط محیطی متفاوت می‌شود. در اثر این تنوع ژنتیکی، تکامل سریع قارچ با شرایط محیطی رخ می‌دهد (Li et al 2004).

در این مطالعه مشاهده شد، جدایه MI10 از استان خراسان با جدایه MI69 از استان هرمزگان و جدایه MI78 استان سمنان در گروه MCG33 قرار گرفتند زمانی که جدایه‌هایی از مناطق جغرافیایی دور از هم در یک گروه قرار می‌گیرند بیانگر این است که احتمالاً این جدایه‌ها کلون‌هایی از یک جد مشترک بوده‌اند که اخیراً اشتقاق یافتند و با جا به جایی مواد گیاهی توسط انسان در شرایط آب و هوایی متفاوتی قرار گرفته‌اند و در طول زمان دچار تغییرات یکسان شده‌اند و یا فرصت کافی برای ایجاد تغییرات نداشته و عمدتاً تولید مثل غیر جنسی داشته‌اند. در این تحقیق مشاهده شد که جدایه‌های مختلف از میزبان-های مختلف در یک گروه قرار می‌گرفتند و اکثر گروه‌ها دارای میزبان‌های مختلف بودند و در واقع این حالت تنوع ژنتیکی بالای این قارچ را نشان می‌دهد که با اینکه تنها یک گونه می‌باشد ولی قادر به بیماری‌زایی طیف وسیعی از میزبان‌های گیاهی می‌باشد.

در این بررسی برخی جدایه‌ها با چندین جدایه نماینده سازگاری داشتند، به همین دلیل مجموع تعداد جدایه‌های سازگار در گروه‌های سازگاری میسلیمیوم از تعداد کلی جدایه‌های استفاده شده در تحقیق بیشتر است. دلیل این پدیده این است که همواره همسانی کامل اللی در همه لوکوس‌های دخیل در تنظیم سازگاری میسلیمیوم برای سازگاری میسلیمیوم مورد نیاز نیست (Wu et al 2017).

میسلیمیوم برای بررسی تنوع و ارتباط ژنتیکی جدایه-های *M. phaseolina* استفاده شد که ۱۱۳ جدایه در ۳۳ گروه سازگار میسلیمیوم قرار گرفتند. تعداد گروه‌های سازگار میسلیمیوم در یک گونه تحت تاثیر تولید مثل قارچ، پراکنش جغرافیایی و نوع نمونه برداری، تعداد نمونه از هر منطقه و عملیات کشاورزی می‌باشد (Kull 2004, Liu & Milgroom 2007). در این تحقیق، ارتباطی بین گروه‌های سازگاری میسلیمیوم شناسایی شده، مناطق جغرافیایی و منشا میزبانی جدایه‌ها وجود نداشت. که این عدم همبستگی می‌تواند ناشی از غلبه جریان ژنی بر تاثیرات رانش ژنتیکی و جلوگیری از تمایز و تفکیک جدایه‌های یک منطقه باشد در واقع بر اثر مهاجرت جدایه‌ها و مخلوط شدن مداوم ژنوتیپ‌ها بین زیر جمعیت‌ها و تبادل ژنتیکی فراوان تمایز و تفکیک جدایه‌ها بر اساس منطقه و منشا میزبانی را کاهش می‌دهد (Slatkin 1987). در گروه MCG1 مشاهده شد که جدایه‌های مربوط به یک میزبان و دو منطقه نزدیک به هم در یک گروه سازگاری قرار گرفتند. این حالت نشان دهنده شباهت ژنتیکی بین جدایه‌های مربوطه است. شباهت ژنتیکی بین جمعیت‌ها می‌تواند نشان دهنده جریان ژنی باشد و نشان می‌دهد این جمعیت‌ها ممکن است از یک جد مشترک منشا گرفته باشند. شباهت ژنتیکی بین دو منطقه می‌تواند ناشی از نرخ مهاجرت و وقوع جریان ژنی بین دو منطقه باشد. جریان ژنی ممکن است از طریق مکانیسم‌های پراکنش طبیعی مانند جا به جایی اسکلروت از طریق ادوات کشاورزی و یا به همراه بافت‌های گیاهی تسهیل شده باشد (et al 2000). جدایه‌های MI7, MI16, MI18, MI21, MI23 با اینکه همگی از استان فارس جداسازی شده بودند، حتی دو جدایه MI16 و MI23 که هر دو از منطقه مهارلو استان فارس بودند در گروه‌های سازگار میسلیمیوم مختلف قرار

تکامل از آن اشتقاق پیدا کرده باشند که هر کدام تعدادی از لوکوس‌های *het* را حفظ کرده‌اند. تحقیق اخیر، اولین مورد از بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌های *M. phaseolina* در ایران با استفاده از تعیین گروه‌های سازگار میسلیومی می‌باشد. پیشنهاد می‌شود، تحقیقات بیشتر بر روی فاکتورهای مؤثر بر سازگاری و ناسازگاری میسلیومی و همچنین تعیین فراوانی تغییرات ژنتیکی در زیستگاه‌های مختلف این قارچ انجام شود.

همچنین می‌توان این گونه استدلال کرد که در هر جدایه قارچی چندین لوکوس *het* در ناسازگاری نقش دارند که ممکن است مشترک باشند تعدادی از لوکوس‌های *het* با یکی از جدایه‌های نماینده مشترک باشند و تعدادی با لوکوس‌های *het* جدایه نماینده دیگر مشترک باشند و این به ماهیت قارچ بر می‌گردد و بیانگر در حال تغییر بودن جمعیت قارچی است. همچنین می‌توان این طور بیان کرد که جدایه‌هایی که با چندین جدایه نماینده سازگار است ممکن است جدایه والدی باشد و جدایه‌های والدی طی

منابع

- Akinsanmi, O. A., Backhouse, D., Simpfendorfer, S. and Chakraborty, S. 2008. Mycelial compatibility reactions of Australian *Fusarium graminearum* and *F. pseudograminearum* isolates compared with AFLP groupings. *Plant Pathology*, 57: 251-261
- Anagnostakis, S. L. 1977. Vegetative incompatibility in *Endothia parasitica*. *Experimental Mycology*, 1: 306-316.
- Brasier, C. M. 1984. Inter-mycelial recognition systems in *Ceratocystis ulmi*, their physiological properties and ecological importance. In: Jennings, D., Rayner, A. D. M. (eds.), *The Ecology and Physiology of the Fungal Mycelium*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, P. 451-497.
- Campbell, C.L., and van der Gaay, D.J. 1993. Temporal and spatial dynamics of microsclerotia of *Macrophomina phaseolina* in three fields in North Carolina over four to five years. *Phytopathology* 83: 1434-1440
- Carling, D.E., Kuninaga, S., Leiner, R.H. 1988. Relatedness within and among intraspecific groups of *Rhizoctonia solani*: A comparison of grouping by anastomosis and by DNA hybridization *Phytoparasitica* 16:209-210
- Cilliers, A. J., Herselman, L. and Pretorius, Z. A. 2000. Genetic variability within and among mycelial compatibility groups of *Sclerotium rolfsii* in South Africa. *Phytopathology*, 90 (9): 1026-1031.
- Cloud, G.L., and Rupe, J. C. 1991. Morphological instability on a chlorate medium of isolates of *Macrophomina phaseolina* from soybean and sorghum. *Phytopathology* 81: 892-895.
- Cook, G. E., Boosalis, M. G., Duncle, L. D. and Odvody, G. N. 1973. Survival of *Macrophomina phaseolina* in corn and sorghum stalk residue. *Plant Disease Reporter* 57: 873-875.
- Crous, P.W., Groenewald, J.Z. Risède, J.- Simoneau, M. P. and Hywel-Jones, N.L. 2004. *Calonectria* species and their *Cylindrocladium anamorphs*: species with sphaeropedunculate vesicles. *Studies in Mycology* 50, 415-430
- Csondes, I. 2012. Mycelial compatibility of Hungarian *Macrophomina phaseolina* isolates. *Acta Agronomica Hungarica* 59(4): 371 -377
- Dhingra, O. D. and Sinclair, J. B. 1972. Variation among isolates of *Macrophomina phaseolina* (*Rhizoctonia bataticola*) from the soybean plant. *Phytopathology* 62: 1108 (Abstract).
- Glass, N. L. and Kulda, G. A. 1992. Mating type and vegetative incompatibility in filamentous ascomycetes. *Annual Review of Phytopathology*, 30: 201-224.
- Glass, N. L., Jacobson, D. J. and Shiu, P. K. T. 2000. The genetics of hyphal fusion and vegetative incompatibility in filamentous ascomycete fungi. *Annual Review of Genetics*, 34(2): 165-186.
- Hambleton, S., walker, C. and kohn, L. M. 2002. Clonal lineages of *Sclerotinia sclerotiorum* previously known from other crops predominate in 1999-2000 samples from Ontario and Quebec soybean. *Can. J. Plant Pathol.* 24: 309-315.
- Hemmati, R., Javan-Nikkhah, M. and Linde, C. C. 2009. Population genetic structure of *Sclerotinia sclerotiorum*

- on canola in Iran. *European Journal of Plant Pathology*, 125:617-628.
- Inoue, K., Kanematsu, S., Park, P. and Ikeda, K. 2011. Cytological analysis of mycelial incompatibility in *Rosellinia necatrix*. *Fungal Biology*, 115: 87-95.
- Jana, T., Sharma, T., Prasad, R. D. and Arora, D. K. 2003. Molecular characterization of *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium* species by a single primer RAPD technique. *Microbiological Research* 158: 249-257.
- Kohn, L. M., Carbone, I., and Anderson, J. B. 1990. Mycelial interactions in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Experimental Mycology* 14:255-267.
- Kull, L. S., Pederson, W. L., Palmquist, D. and Hartan, G. L. 2004. Mycelial compatibility grouping and aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Disease*, 88(4): 325-332
- Leslie, J. F. and Klein, K. K. 1996. Female fertility and mating type effects on effective population size and evolution in filamentous fungi. *Genetics*, 144(2): 557-567.
- Li, Y. C., Korol, A. B., Fahima, T. and Nevo, E. 2004. Microsatellites within genes: structure, function, and evolution. *Molecular Biology and Evolution*, 21(6): 991-1000
- Liu, J., Meng, Q., Zhang, Y., Xiang, H., Li, Y., Shi, F., Ma, L., Liu, C., Liu, Y., Su, B. and Li, Z. 2018. Mycelial compatibility group and genetic variation of sunflower *Sclerotinia sclerotiorum* in Northeast China. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 102: 185-192
- Liu, Y. C. and Milgroom, M. G. 2007. High diversity of vegetative compatibility types in *Cryphonectria parasitica* in Japan and China. *Mycologia*, 99(2): 279-284.
- Malvaréz, G., Carbone, I., Grünwald, N.J., Subbarao, K.V., Schafer, M., and Kohn, L.M., 2007. New populations of *Sclerotinia sclerotiorum* from lettuce in California and peas and lentils in Washington. *Phytopathology* 97, 470-483.
- McCallum, B. D., Tekauz, A. and Gilbert, J. 2004. Barrage zone formation between vegetatively incompatible *Fusarium graminearum* (Gibberella zeae) isolates. *Phytopathology*, 94(5): 432-437.
- Micali, C. O. and Smith, M. L. 2003. On the independence of barrage formation and heterokaryon incompatibility in *Neurospora crassa*. *Fungal Genetics and Biology*, 38(2): 209-219.
- Mihail, J.D. 1992. *Macrophomina phaseolina* : Singleton, L.L., Mihail, J.D., Rush C.M. (eds) *Methods for Research on Soil-Borne Phytopathogenic fungi*. St. Paul, MN, USA, American phytopathological society, pp 134-136
- Papavizas, G. C., 1977. Some factors affecting survival of sclerotia of *Macrophomina phaseolina* in soil. *Soil Biochemistry* 9: 337-341.
- Pearson, C. A. S., Leslie, J. F. and Schwenk, F. W. 1986. Variable chlorate resistance in *Macrophomina phaseolina* from corn, soybean, and soil. *Phytopathology*, 76: 646-649.
- Pearson, C. A. S., Leslie, J.F. & Schwenk, F.W. 1987. Host preference correlated with chlorate resistance in *Macrophomina phaseolina*. *Plant Disease* 71, 828-831.
- Phillips, A.J.L., Alves, J., Abdollahzadeh, B., Slippers, M.J. Wingfield, J.Z. Groenewald and Crous, P.W. 2013. The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. *Studies in Mycology* 76, 51-167.
- Rayner, A. D. M. and Todd, N. K. 1979. Population and community structure and dynamics of fungi in decaying wood. *Advances in Botanical Research* 7: 333-420.
- Sarr, M., Ndiaye, M., Groenewald, J. and Crous, P.W. 2014. Genetic diversity in *Macrophomina phaseolina*, the causal agent of charcoal rot. *Phytopathologia Mediterranea* 53
- Schafer, M. R. and Kohn, L. M. 2006. An optimized method for mycelial compatibility testing in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Mycologia* 98: 593-597.
- Slatkin, M. 1987. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, 236: 787-792..
- Smith, H., Wingfield, M.J. Crous, P.W. and Coutinho, T.A. 1996. *Sphaeropsis sapinea* and *Botryosphaeria dothidea* endophytic in *Pinus* spp. and *Eucalyptus* spp. in South Africa. *South African Journal of Botany* 62, 86-88.
- Smith, M. L., Gibbs, C. C. and Milgroom, M. G. 2006. Heterokaryon incompatibility function of barrage-associated vegetative incompatibility genes (vic) in *Cryphonectria parasitica*. *Mycologia*, 98(1): 43-50.
- Strom, N. B., Bushley, K. E., 2016. Two genomes are better than one: History, genetics, and 483 biotechnological applications of fungal heterokaryons. *Fungal Biol Biotechnol* 3:4
- Su, G., Such, S. O. and Russin, J. S. 1998. Genetic and physiological evidence for host specialization in

- Macrophomina phaseolina*. Phytopathology 88: 886
- Su, G., Suh, S. O., Schneider, R. W. and Russian, J. S. 2001. Host specialization in the charcoal rot fungus, *Macrophomina phaseolina*. Phytopathology, 70 :13-17
- Suzaki, K. 2008. Population structure of *Valsa ceratosperma*, causal fungus of *Valsa canker*, in apple and pear orchards. Journal of General Plant Pathology, 74(2): 128- 132.
- Wang, D., Iezzoni, A. and Adams, G. C. 1998. Genetic heterogeneity of *Leucostoma* species in Michigan peach orchards. Phytopathology, 88(5): 376-381.
- Worrall, J. J. 1997. Somatic incompatibility in basidiomycetes. Mycologia 89: 24-36.
- Wu S, Cheng J, Fu Y, Chen T, Jiang D, Ghabrial SA, Xie J .2017. Virus-mediated suppression 485 of host non-self recognition facilitates horizontal transmission of heterologous viruses. PLoS 486 Pathogens 13:e1006234
- Zándoki, E., Szodi, S., Turóczy, G. 2005. Mycelial compatibility of *Sclerotinia sclerotiorum* strains of different area. Acta Phytopathol. Entomol. Hung., 40, 295–301.