

# بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های *Fusarium moniliforme* جدا شده از بذور دو رقم ذرت هیبرید با استفاده از گروه‌های سازگار رویشی

رضا فرخی نژاد<sup>۱</sup>

سیصد و هفتاد و سه جدایه *Fusarium moniliforme* از بذور دو رقم ذرت هیبرید که در ۱۲ منطقه مختلف در بخش شمال مرکزی آمریکا کشت گردیده بودند جدا شد. با استفاده از محیط کشت حداقل حاوی کلرات پتاسیم برای این جدایه‌ها تعداد ۲۸۸۸ موتانت نیت (۱۲۹۸ عدد از جدایه‌های رقم ۳۳۷۷ و بقیه مربوط به جدایه‌های رقم ۳۴۷۵) به دست آمد. موتانت‌های نیت بر اساس نحوه رشدشان روی محیط کشت‌های حاوی منابع مختلف نیتروژن در سه کلاس فتوتیپی (*NitM*, *nit3*, *nit1*) قرار گرفتند. از نیت‌های حاصل از جدایه‌های رقم ۳۳۷۷، ۳۰٪، ۲۵٪، ۴۵٪ و از نیت‌های حاصل از جدایه‌های رقم ۳۴۷۵، ۲۹٪، ۱۸٪، ۵۳٪ و آنها را به ترتیب *nit1*، *NitM*، *nit3* تشکیل دادند. از موتانت‌های نیت برای تعیین گروه‌های سازگار رویشی (VCGs) بین جدایه‌های ارقام مختلف درون هر منطقه و بین مناطق مختلف استفاده شد. از ۱۹۴ VCG شناخته شده در این تحقیق ۱۳۴ عدد را گروه‌هایی تشکیل داد که تنها شامل یک جدایه بودند. چنین گروه‌هایی ۸۷٪-۳۳ و ۸۸٪-۳۳ گروه‌های هر منطقه را به ترتیب در ارقام ۳۳۷۷ و ۳۴۷۵ تشکیل داد. در رقم ۳۳۷۷ از ۹۱ VCG شناخته شده ۱۰ عدد و در رقم ۳۴۷۵ از ۱۰۳ VCG هفت عدد در بیش از یک منطقه مشترک بودند. در پنج منطقه جدایه‌هایی از هر دو رقم در VCG‌های مشترک قرار داشتند. در یکی از این مناطق ۶۹٪ از کل جدایه‌های آن محل در یک VCG قرار گرفت. این VCG بزرگترین گروه شناخته شده در این مطالعه بود، ولی هیچ عضوی از این گروه در مناطق دیگر پیدا نشد. جدایه‌های موجود در این گروه تنها ۵٪ از کل جمعیت قارچی را تشکیل داد. بر اساس این آمار جمعیت قارچ مورد مطالعه در مناطق مختلف جغرافیایی بسیار موضعی بوده و از نظر ژنتیکی متنوع می‌باشد. این آمار پیشنهاد مینماید که نقل و انتقال بذور ذرت میتواند از عوامل تشریح‌کننده تنوع ژنتیکی مشاهده شده در این مطالعه در مزارع تجارتی ذرت باشد.

**واژه‌های کلیدی:** تنوع، گروه‌های سازگار رویشی، فوزاریوم، هتروکاریون، موتانت، نیت

۱- استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

## مقدمه:

*Fusarium moniliforme* (Sheld) emend. Snyder & Hans پاتوژنی است که انتشار جهانی داشته و به گیاهانی که هم از نظر اقتصادی و هم از نظر ارزش غذایی برای انسان اهمیت دارند از قبیل برنج (*Oryza sativa* L.)، ذرت (*Zea mays* L.)، گندم (*Triticum aestivum* L.)، جو (*Hordeum vulgare* L.) و سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) (۳)، نیشکر (*Saccharum officinarum* L.) و گیاهان دیگری از قبیل پنبه (*Gossypium hirsutum* L.)، و موز (*Musa sp.*) حمله می‌کند (۴). این قارچ در مناطق گرمسیری، نیمه گرمسیری و معتدل جهان گسترش دارد و در ذرت باعث ایجاد بیماریهایی مثل پوسیدگی دانه، ریشه، ساقه و آتشک گیاهچه می‌شود (۳۴). این بیماریها کاهش شدیدی در محصول سالیانه ذرت به وجود می‌آورند (۱۶). قارچ فوزاریوم نه تنها باعث بیماریهایی که در ذرت ایجاد می‌کند، بلکه به دلیل تولید انواع متفاوتی از مایکوتوکسین<sup>۱</sup> از قبیل زیرالنون<sup>۲</sup> (۲۱) و مونیلیفورمین<sup>۳</sup> (۳۰) نیز برای انسان اهمیت دارد.

تنوع به تفاوت‌های ژنتیکی و مورفولوژیکی موجود بین افراد یک جمعیت اشاره می‌نماید. چندین روش برای تعیین تنوع در جمعیت وجود دارد که یکی از آنها استفاده از گروههای سازگار رویشی<sup>۴</sup> می‌باشد (۲۶، ۲۹، ۳۲). این روش وسیله خوبی برای تقسیم بندی جدایه‌ها به گروههای سازگار و ناسازگار رویشی می‌باشد (۲۹، ۳۱). به عبارت دیگر، در این روش، توانایی جدایه‌های متفاوت برای تشکیل هتروکاریون<sup>۵</sup> تعیین می‌شود (۲۲، ۲۹، ۳۶). جدایه‌هایی که با همدیگر تشکیل هتروکاریون می‌دهند از نظر رویشی سازگار بوده و یک گروه سازگار رویشی تشکیل می‌دهند، ولی جدایه‌هایی که تولید هتروکاریون نمی‌کنند از نظر رویشی ناسازگار می‌باشند (۲۹، ۳۵، ۳۶). از این روش نه تنها برای تعیین تنوع در ساختار جمعیتی

۱ - Mycotoxin

۲ - Zearalenone

۳ - Moniliformin

۴ - Vegetative Compatibility Groups (VCG,s)

۵ - Heterokaryon



بسیاری از قارچها استفاده شده است (۳۷، ۳۲، ۲۹، ۲۴، ۶) بلکه در بعضی موارد، ارتباط گروههای سازگار رویشی با بیماریزایی در یک میزبان خاص نشان داده شده است (۲۳ و ۸). گذشته از کاربردهای بالا، از گروه سازگار رویشی بعنوان یک نشانگر ژنتیکی مفید در مطالعات مربوط به جمعیت استفاده شده است، ضمناً سازگاری رویشی می تواند مستقیماً توانایی تبادل ژنتیکی ارگانیس‌م‌هایی را که فاقد تولید مثل جنسی میباشند از طریق پراجنسی (پاراسکسوال) تحت تأثیر قرار دهد (۴۰).

وقتیکه جدایه‌های قارچی از نظر رویشی سازگار باشند ریشه آنها با هم تماس گرفته، جوش خورده و حالت هتروکاریون به وجود می‌آید. در بیشتر موارد هتروکاریون وقتی بوجود می‌آید که در هر لوکوس هت یا ویک<sup>۱</sup> آللهای متشابه وجود داشته باشد (۲۹، ۹). در قارچهایی که از طریق غیرجنسی زیاد می‌شوند ممکن است که جدایه‌های سازگار رویشی در مقایسه با جدایه‌های ناسازگار رویشی از نظر ژنتیکی با هم مشابه باشند. برای مثال جدایه‌هایی از یک قارچ که از لحاظ رویشی سازگارند، از نظر خصوصیات چگونگی اندازه کلنی (۱۰)، تولید آنتی‌بیوتیک (۱۴)، بیماریزایی (۱۹، ۱۲، ۱) و آیزوزایم<sup>۲</sup> (۵) کاملاً مشابهند.

در سال ۱۹۸۵ پوهالا<sup>۳</sup> برای تعیین گروههای سازگار رویشی در *F. oxysporum* روش ابداعی کاو<sup>۴</sup> (۱۳) را برای مطالعه موتانت‌های مقاوم به کلرات در *Aspergillus nidulans* پس از اصلاح بکار برد (۳۶). برای این کار پوهالا از موتانت‌هایی که قادر به استفاده از تیرات نبودند (نیت)<sup>۵</sup> استفاده کرد. این موتانت‌های اگزوتروف<sup>۶</sup> بصورت کلنی‌هایی ظریف که دارای رشدی سریع و فاقد میسلیوم هوایی می‌باشند روی محیط کشت حداقل<sup>۷</sup> ظاهر می‌شوند. محیط کشت حداقل، محتوی نیترات سدیم بعنوان تنها منبع نیتروژن می‌باشد. با استفاده از محیط کشت انتخابی حاوی منابع متفاوت نیتروژن، موتانت‌های نیت در سه گروه فنوتیپی *nit3 nit1* و

۱ - het or vic locus

۲ - Isozyme

۳ - Puhalla

۴ - Cove

۵ - Nitrate-nonutilizing (nit) mutants

۶ - auxotrophs

۷ - Minimal medium

NitM قرار می‌گیرند (۹). وقتی که بعضی از این نیتها روی محیط کشت حداقل جفت شوند، همدیگر را تکمیل می‌کنند (۳۶)، یعنی در محلی که کلنیهای ظریف نیتها بهم می‌رسند میسلیمهای هوایی متراکمی توسعه می‌یابد. این رشد میسلیمی متراکم نشانه تکمیل شدن نیتها و تشکیل هتروکاریون بوده و حاکی از سازگاری رویشی بین جدایه‌های استفاده شده می‌باشد (۱۱). نشان داده شده، که سازگاری رویشی که در نتیجه پیوند ریشه‌های (آناستوموز) دو جدایه قارچی بوجود می‌آید بوسیله لوکوسهای زیادی کنترل می‌شود (۳۸).

اهداف این تحقیق عبارتند از: بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های فوزاریوم جدا شده از بذور دو رقم هیبرید در هر منطقه و بین مناطق مختلف از طریق تعیین تعداد گروه‌های سازگار رویشی، تعیین اینکه جدایه‌های موجود در یک گروه سازگار رویشی خاص، یک رقم خاص از میزبان را ترجیح می‌دهند و نیز تعیین اینکه آیا جدایه‌های موجود در یک گروه سازگار رویشی محدود به یک منطقه جغرافیایی خاص می‌باشند.

## مواد و روشها:

در این مطالعه از بذور دو رقم ذرت هیبرید (۳۴۷۵ و ۳۳۷۷) که هر کدام در دوازده ناحیه در بخش شمال میانی کشور آمریکا (جدول ۱) رشد کرده بودند استفاده شد. از بذور جمع‌آوری شده هر رقم در هر منطقه ۱۶ عدد بطور تصادفی انتخاب شد. چهار عدد از این بذور پس از ضدعفونی سطحی با الکل اتیلیک ۷۵٪ و عبور از روی شعله و دوازده عدد دیگر بدون ضدعفونی سطحی در ظروف پتری حاوی محیط کشت انتخابی فوزاریوم<sup>۱</sup> (۳۳) کشت داده شد. ظروف کشت برای مدت ۷-۵ روز در انکوباتور ۲۵° سانتیگراد گذاشته شد. بعد از رشد کلنیهای قارچ، از هر کدام قطعه کوچکی (حدود ۲ میلی‌متر مکعب) به محیط کشت کامل<sup>۲</sup> (۹) منتقل و ظروف کشت برای مدت ۷-۵ روز در دمای فوق نگهداری شد. بعد از رشد کلنیا در این محیط کشت، کلیه جدایه‌های حاصله از طریق تک اسپور (انتخاب میکروکنید یومها با



دستگاه میکرومانی‌پولاتور<sup>۱</sup> انجام شد) خالص سازی شدند. قارچ‌های خالص شده بعد از یک هفته رشد در شرایط بهینه، جهت نگهداری به سردخانه (۴ درجه سانتیگراد) منتقل گردیدند. برای نگهداری بلندمدت جدایه‌ها، از گلیسرول ۱۵٪ و دمای ۸۰°- سانتیگراد استفاده شد.

### تولید موتانت‌های مقاوم به کلرات:

قطعه کوچکی از محیط کشت کامل که حاوی کشت پنج روزه هر جدایه بود به محیط کشت کلرات<sup>۲</sup> (۳۹) منتقل شد. برای هر جدایه ده تشتک پتری حاوی محیط کشت کلرات مایه‌زنی گردید. پس از آن ظروف کشت به انکوباتور ۲۵° سانتیگراد منتقل شدند. ظروف هر دو روز یک بار برای ظهور موتانت‌های مقاوم به کلرات که به صورت سکتورهای<sup>۳</sup> سریع‌الرشد از کلنیهای کم‌رشد قارچ در محیط کشت ظاهر می‌شوند مورد بررسی قرار گرفتند. بعد از ظهور سکتورها در محیط کشت حاوی کلرات، از هر سکتور تکه‌ای به اندازه ۲ میلی‌متر مکعب به محیط کشت حداقل منتقل گردید. پس از آن ظروف مایه‌زنی شده به انکوباتور ۲۵° سانتیگراد منتقل گردیدند. موتانت‌ها از نظر سرعت رشد در محیط کشت حداقل دارای رشدی معمولی بوده ولی بصورت کلنیهای خیلی ظریف رشد می‌نمایند. تمام موتانت‌های حاصله در لوله‌های حاوی محیط کشت حداقل و در ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند تا در آزمایشات بعدی، فنوتیپ آنها تعیین گردد.

### تعیین فنوتیپ موتانت‌های نیت:

برای تعیین فنوتیپ موتانت‌های نیت از محیط کشت پایه<sup>۴</sup> (۹) که حاوی یکی از منابع

نیترژن بشرح زیر بود استفاده شد:

(۱) محیط کشت نترات = محیط کشت حداقل، (۲) محیط کشت نیتريت = محیط کشت پایه

۱ - Micromanipulator

۲ - Chlorate-medium

۳ - Fast growing sectors

۴ - Basal medium

حاوی نیم گرم نیتريت سدیم در لیتر، ۳) محیط کشت هیپوزانتین = محیط کشت پایه حاوی ۰/۲ گرم هیپوزانتین در لیتر، ۴) محیط کشت آمونیوم = محیط کشت پایه حاوی یک گرم تارتارات آمونیوم در لیتر. برای تعیین فنوتیپ موتانت‌های نیت قطعات کوچکی از کشت پنج روزه هر موتانت از محیط کشت حداقل بطور جداگانه به ظروف حاوی محیط کشت‌های حاوی منابع مختلف نیتروژن منتقل شد. بعد از انتقال موتانت‌ها، ظروف کشت به دمای ۲۵° سانتیگراد منتقل گردیدند. مورفولوژی کلنی‌های حاصله بعد از چهار روز مورد مطالعه قرار گرفت. موتانت‌ها براساس توانائیشان در استفاده از منابع مختلف نیتروژن در هریک از گروه‌های فنوتیپی سه‌گانه *NitM*، *nit3 nit1* قرار گرفتند. کوشش بعمل آمد که برای هر جدایه حداقل یک *nit1* و یک *NitM* بوجود آید که این امر برای بعضی از جدایه‌ها عملی نگردید.

#### تعیین گروه‌های سازگار رویشی و پراکندگی آنها:

برای تعیین گروه‌های سازگار رویشی بین جدایه‌های مختلف قارچ *F. moniliforme*، در صورت امکان از *nit1* و *NitM* آنها استفاده شد. در غیاب *NitM* از *nit1* و *nit3* و در بعضی مواقع از *NitM* و *nit3* نیز استفاده بعمل آمد. برای این عمل یک قطعه کوچک از کشت پنج روزه یک موتانت نیت (مثلاً *NitM*) از یک جدایه در وسط تشتک پتری حاوی محیط کشت حداقل قرار گرفت. سپس در دو طرف آن و به فاصله تقریباً مساوی قطعه کوچکی از موتانت‌های نیت (*nit1* یا *nit3*) از دو جدایه دیگر قرار داده شد. این عمل در مورد تمام جدایه‌های حاصل از بذور هر منطقه انجام شد. ظروف مایه‌زنی شده به دمای ۲۵° درجه سانتیگراد منتقل شدند. ظروف کشت بصورت هفتگی برای تشکیل هتروکاریون پروتوتروف مورد بررسی قرار گرفتند. تشکیل هتروکاریون از روی ظهور میسلیوم‌های هوایی متراکم در محل تماس کلنی جدایه‌ها آشکار شد. عدم ظهور میسلیوم‌های هوایی و متراکم بیانگر عدم وجود سازگاری رویشی بین جدایه‌ها بود. پس از تعیین گروه‌های سازگار رویشی بین جدایه‌های ناشی از بذور هر رقم در هر منطقه، گروه‌های سازگار رویشی بین جدایه‌های مربوط به مناطق مختلف برای



هر رقم به ترتیبی که در بالا شرح داده شد تعیین گردید. پس از آن با استفاده از روش فوق، گروه‌های سازگار رویشی بین جدایه‌های بدست آمده از نواحی مختلف برای ارقام متفاوت بذری تعیین و بدین ترتیب تنوع گروه‌های سازگار رویشی در قارچ مورد مطالعه بررسی شد و پراکندگی گروه‌های فوق در مناطق مختلف بدست آمد. نتایج حاصل از این مرحله دو مرتبه در ظروف کشت ۲۴ چاهکی حاوی محیط کشت حداقل بررسی و مورد ارزیابی قرار گرفت.

## نتایج و بحث:

### جداسازی جدایه‌های قارچ

در این مطالعه جمعا ۴۲۲ جدایه از قارچ *F. moniliforme* از بذور ضد عفونی شده و ضد عفونی نشده (۱۹۵ جدایه از بذور رقم ۳۳۷۷ و ۲۲۷ جدایه از بذور رقم ۳۴۷۵ جمع‌آوری شده از نقاط مختلف) بدست آمد. تعدادی از جدایه‌های حاصله از هر رقم در جریان خالص سازی و نیز تولید موتانت‌های نیت از بین رفتند، در نتیجه تعداد جدایه‌های مورد استفاده جهت تعیین گروه‌های سازگار رویشی جمعا به ۳۷۳ جدایه کاهش یافت. از این تعداد، ۱۷۹ جدایه از بذور رقم ۳۳۷۷ و ۱۹۴ جدایه از بذور رقم ۳۴۷۵ بدست آمده بود (جدول ۱).

### تولید موتانت‌های مقاوم به کلرات

تمام جدایه‌های قارچ *F. moniliforme* روی محیط کشت حاوی کلرات رشدی بسیار کند و ضعیف داشتند. با وجود این، ۱۰-۴ روز بعد از کشت قارچ در روی این محیط، تمام جدایه‌های قارچی سکتورهای سریع‌الرشد مقاوم به کلرات تولید نمودند. کلرات ماده‌ای است که در مطالعات مربوط به جذب و مصرف نیترات در قارچها، باکتریها، جلبکها و گیاهان بسیار مفید بوده است (۹). کلرات از طریق آنزیم احیاء کننده نیترات به کلریت تبدیل شده و این احتمالا می‌تواند باعث مسمومیت ناشی از کلرات در این موجودات گردد. بطور کلی جدایه‌هایی که به کلرات حساسند توانایی احیای نیترات به نیتريت را دارند

جدول ۱- رابطه بین محل جغرافیایی، رقم و گروههای VCG در *F. moniliforme*

ردیف	محل جغرافیایی	ارقام		VCG # مشترک
		۳۴۷۵ جدایه/VCG	۳۳۷۷ جدایه/VCG	
۱	آلگونا، آیوا	۱۲ / ۱۸	۶ / ۱۲	۰
۲	ماریون، آیوا	۴ / ۱۶	۷ / ۱۶	۱
۳	جانستن، آیوا	۵ / ۱۳	۳ / ۱۶	۰
۴	شلبی ویل، ایلینویز	۱۲ / ۱۹	۵ / ۱۵	۱
۵	پرینستون، ایلینویز	۸ / ۱۷	۹ / ۱۶	۰
۶	نورث پلات، نبراسکا	۷ / ۱۸	۴ / ۱۱	۰
۷	یورک، نبراسکا	۱۰ / ۱۸	۷ / ۱۶	۰
۸	باولینگ گرین، اهایو	۱۱ / ۲۰	۱۱ / ۱۶	۰
۹	گاردن سیتی، کانزاس	۱۰ / ۱۷	۱۲ / ۱۵	۲
۱۰	هورون، داکوتای جنوبی	۹ / ۱۲	۸ / ۱۵	۲
۱۱	یونیون سیتی، تنسی	۹ / ۱۴	۸ / ۱۶	۰
۱۲	ویندفال، ایندیانا	۶ / ۱۲	۱۱ / ۱۵	۱
	جمع	۱۰۳/۱۹۴	۹۱/۱۷۹	

ولی جدایه‌های مقاوم به کلرات این توانایی را ندارند (۷). به هر حال، تعداد سکتورهای تولید شده در هر جدایه بدست آمده از بذور رقم ۳۳۷۷ بین ۲ تا ۱۰ عدد متغیر و متوسط تعداد سکتورها در هر جدایه ۷ عدد بود. برای جدایه‌های حاصله از بذور رقم ۳۴۷۵ این ارقام به ترتیب ۱، ۱۰ و ۷ عدد بود. اگر چه تمام جدایه‌های قارچی در محیط کشت کلرات تولید سکتور نمودند ولی همانطوریکه نتایج نشان می‌دهد تفاوت‌هایی در جدایه‌های مختلف از نظر فراوانی تولید سکتور وجود داشت و این مطلبی است که محققین دیگر هم در مورد قارچهای



دیگر به آن اشاره کرده‌اند (۲۸، ۲۷، ۹ و ۶). حدود ۹۷٪ از سکتورهای حاصله در محیط کشت کلرات، و قتیکه به محیط کشت حداقل منتقل شدند قادر به استفاده از نیترا ت بعنوان تنها منبع نیتروژن نبودند و در نتیجه بصورت کلنی‌هایی با رشد ظریف و فاقد میسلیوم‌های هوایی ظاهر شدند. رشد شعاعی این کلنی‌ها مشابه جدایه‌های وحشی بود. این سکتورها به عنوان موتانت‌های نیت در نظر گرفته می‌شوند. طبق مطالعات انجام شده بیشتر قارچ‌ها قادر به استفاده از نیترا ت بعنوان منبع نیتروژن می‌باشند. در این قارچ‌ها، این عمل از طریق احیاء نیترا ت به نیتريت و نیتريت به آمونیوم و با دخالت آنزیم‌های نیترا ت ریداکتاز و نیتريت ریداکتاز عملی می‌گردد (۱۸). موتانت‌های نیت جدایه‌های جهش‌یافته‌ای هستند که قادر به استفاده از نیترا ت نبوده و در نتیجه توانایی تبدیل آن را به آمونیوم ندارند و این بدلیل فقدان آنزیم‌های نیترا ت ریداکتاز و نیتريت ریداکتاز در این موتانت‌ها می‌باشد (۳۶).

در این مطالعه از جدایه‌های بدست آمده از بذور جمعا" ۲۸۸۸ موتانت نیت بدست آمد که ۱۲۹۸ موتانت از جدایه‌های ناشی از بذور رقم ۳۳۷۷ و بقیه از جدایه‌های مربوط به رقم ۳۴۷۵ بود.

### تعیین فنوتیپ موتانت‌های نیت

فنوتیپ موتانت‌های نیت از روی شکل کلنی (نحوه رشد) موتانت‌ها روی محیط کشت‌های حاوی منابع مختلف نیتروژن تعیین شد (جدول ۲).

جدول ۲ - تشخیص فنوتیپ موتانت‌های نیت از روی نحوه رشد آنها در محیط کشت‌های حاوی منابع مختلف نیتروژن (۹).

فنوتیپ موتانت نیت	رشد روی منابع مختلف نیتروژن			
	نیترا ت	نیتريت	هیپوزانتین	آمونیم
ایزوله وحشی	+	+	+	+
nit1	-	+	+	+
nit3	-	-	+	+
NitM	-	+	-	+

(-) = رشد ظریف و بدون تولید میسلیوم هوایی

(+) = رشد قوی و متراکم شبیه نمونه وحشی

براساس جدول (۲) موتانت‌های نیت در سه گروه فنوتیپی قرار می‌گیرند. این گروه‌ها احتمالاً نشان‌دهنده جهش در یک لوکوس ساختمانی نیت‌رات ریداکتاز (*nit1*)، یک لوکوس تنظیم‌کننده مسیر جذب نیت‌رات (*nit3*) و حداقل ۵ لوکوس که ساخت یک کوفاکتور حاوی مولیدنوم را تحت تأثیر قرار می‌دهند (NitM) می‌باشد (۲۷ و ۹). ساخت این کوفاکتور برای فعالیت آنزیم نیت‌رات ریداکتاز لازم است.

در آزمایشات مربوط به تعیین فنوتیپ موتانت‌های نیت، معلوم شد که از مجموع نیت‌های حاصله از جدایه‌های رقم ۳۳۷۷ تعداد ۳۱۹ عدد یعنی ۲۵٪ آنها NitM، ۵۹۹ عدد یعنی حدود ۴۶٪ آنها *nit1* و ۳۸۰ عدد یعنی حدود ۳۰٪ آنها *nit3* بودند. همچنین از مجموع نیت‌های حاصله از جدایه‌های مربوط به رقم ۳۴۷۵ تعداد ۲۸۳ عدد یعنی حدود ۱۸٪ آنها NitM، ۸۴۶ عدد یعنی حدود ۵۳٪ آنها *nit1* و ۴۶۲ عدد یعنی ۲۹٪ آنها *nit3* بودند. این نتایج مشاهدات محققین دیگر را (۲۷، ۹، ۶) در مورد اینکه فراوانی تولید NitM کمتر از فراوانی تولید *nit1* و *nit3* است تأیید می‌نماید.

### گروه‌های سازگار رویشی و پراکندگی آنها در مناطق مختلف

وقتی که موتانت‌های نیت یک جدایه که از نظر ژنتیکی با هم متفاوت بودند (*NitM*، *nit1* و *nit3*) روی محیط کشت حداقل جفت شدند ظهور یک رشد متراکم از میسلیم‌های قارچ در محل تماس کلنی موتانت‌ها نشان از تشکیل هتروکاریون و سازگاری رویشی جدایه‌های مربوطه بود. ظهور این رشد متراکم میسلیومی بین ۳-۵ روز بعد از کشت نمایان بود. وقتی که از *NitM* برای تشکیل هتروکاریون استفاده شد ظهور رشد متراکم میسلیومی در محل تماس کلنی نیتها قویتر و مشخص‌تر از زمانی بود که از دیگر نیتها استفاده بعمل آمد. ضمناً در صورت استفاده از *NitM* تشکیل هتروکاریون سریعتر به وقوع می‌پیوست. هیچکدام از جدایه‌های مورد استفاده در این مطالعه پدیده خود ناسازگاری<sup>۱</sup> را نشان ندادند. جدول ۱ تعداد جدایه‌های مورد استفاده جهت تعیین گروه‌های سازگار رویشی و نیز تعداد VCG های بدست آمده در جمعیت‌های قارچی جدا شده از دو رقم ذرت هیبرید و جدول ۳ نیز توزیع



جدایه‌های قارچی را در گروه‌های سازگار رویشی مختلف نشان می‌دهند. در این مطالعه هیچ الگوی خاصی در مورد پراکنش VCG‌های مختلف در مناطق مختلف و نیز در مورد توزیع جدایه‌های مختلف در گروه‌های سازگار رویشی متفاوت به دست نیامد. مثلاً "جدایه‌های قارچ از بذور رقم ۳۳۷۷ در منطقه آگوندا در ۶ گروه سازگار رویشی به این ترتیب قرار گرفتند که یکی از گروه‌ها شامل هفت جدایه و پنج گروه دیگر هرکدام دارای یک عضو (جدایه) بودند. توزیع دیگر جدایه‌های قارچی در گروه‌های سازگار رویشی در مناطق دیگر در این رقم و رقم ۳۴۷۵ نیز به همین صورت بود (جدول ۳).

جدول ۳- ارتباط بین منطقه، رقم، تعداد VCG و توزیع جدایه‌های قارچی در آنها

رقم ۳۴۷۵	رقم ۳۳۷۷	محل
توزیع جدایه‌های قارچی در گروه‌های VCGs *	توزیع جدایه‌های قارچی در گروه‌های VCGs *	
۹ (۱)، ۳ (۳)	۵ (۱)، ۱ (۷)	آگوندا
۳ (۱)، ۱ (۱۳)	۵ (۱)، ۱ (۲)، ۱ (۹)	ماریون
۴ (۱)، ۱ (۹)	۱ (۱)، ۱ (۶)، ۱ (۹)	جانستن
۹ (۱)، ۱ (۲)، ۱ (۳)، ۱ (۵)	۳ (۱)، ۱ (۴)، ۱ (۸)	شلبی ویل
۳ (۱)، ۱ (۲)، ۴ (۳)	۴ (۱)، ۴ (۲)، ۱ (۴)	پرینستون
۶ (۱)، ۱ (۱۲)	۳ (۱)، ۱ (۸)	نورث پلات
۷ (۱)، ۲ (۳)، ۱ (۵)	۶ (۱)، ۱ (۱۰)	یورک
۷ (۱)، ۲ (۲)، ۱ (۴)، ۱ (۵)	۷ (۱)، ۳ (۲)، ۱ (۳)	باولینگ‌گرین
۷ (۱)، ۱ (۲)، ۱ (۳)، ۱ (۵)	۹ (۱)، ۳ (۲)	گاردن سیتی
۷ (۱)، ۱ (۲)، ۱ (۳)	۷ (۱)، ۱ (۸)	هورون
۸ (۱)، ۱ (۶)	۴ (۱)، ۲ (۲)، ۱ (۳)، ۱ (۵)	یونیون سیتی
۲ (۱)، ۲ (۲)، ۲ (۳)	۸ (۱)، ۲ (۲)، ۱ (۳)	ویندفال

\* اعداد داخل پرانتز نشان‌دهنده تعداد جدایه‌ها و اعداد بیرون پرانتز نشان‌دهنده تعداد VCG می‌باشند.

از مجموع ۱۹۴ VCG بدست آمده از دو رقم هیبرید ذرت در مناطق مختلف حدود ۶۹٪ از آنها را گروههایی تشکیل می‌داد که تنها دارای یک جدایه (عضو) بودند (جدول ۳). همانطوریکه از جدول ۳ برمی‌آید تعداد گروههای سازگار رویشی بین جدایه‌های حاصله از بذور دو رقم هیبرید ذرت در نواحی مختلف مورد آزمایش متفاوت بود. از این گذشته تعداد جدایه‌های موجود در گروههای سازگار رویشی در هر منطقه نیز تفاوت داشت. از محاسبه گروههای سازگار رویشی بین جدایه‌های قارچی مربوط به رقم ۳۳۷۷ معلوم شد که ۸۷٪-۳۳ از VCGها را در مناطق مختلف، گروههایی تشکیل می‌دادند که تنها دارای یک عضو بودند. بزرگترین گروه سازگار رویشی در بین جدایه‌های بدست آمده از رقم فوق در منطقه یورک تشکیل شد که حدود ۶۳٪ از جدایه‌های آن ناحیه را در بر داشت (جدول ۳). همچنین محاسبه گروههای سازگار رویشی بین جدایه‌های قارچی مربوط به رقم ۳۴۷۵ نشان داد که ۸۸٪-۳۳ از VCGها را در مناطق مختلف، گروههایی تشکیل دادند که هرکدام تنها دارای یک جدایه بودند. در بین VCGهای بدست آمده از این رقم، یک VCG در منطقه ماریون با در برداشتن حدود ۸۱٪ از جدایه‌ها بزرگترین گروه سازگار رویشی را تشکیل داد (جدول ۳).

نتایج حاصل از آزمایشات مربوط به تعیین گروههای سازگار رویشی مشترک بین مناطق مختلف برای هر رقم ذرت هیبرید نشان داد که از مجموع ۹۱ گروه سازگار رویشی شناخته شده بین جدایه‌های قارچی مربوط به رقم ۳۳۷۷ ده عدد آنها در بیش از یک منطقه وجود داشت. از این ده عدد VCG، دو عدد هرکدام با سه عضو، یکی در مناطق آلگونا، هورون و باولینگ گرین و دیگری در آلگونا، ماریون و باولینگ‌گرین مشترک بودند. بزرگترین VCG مشترک دارای هشت عضو بود که در مناطق آلگونا و ویندفال مشترک بوده و اعضای آن حدود ۴٪ از کل جمعیت قارچی جدا شده از رقم ۳۳۷۷ را تشکیل داد. هفت گروه سازگار رویشی دیگر هرکدام با داشتن دو عضو به این ترتیب قرار گرفتند که دو تا از آنها بین مناطق باولینگ‌گرین و ماریون، دو تا بین آلگونا و هورون، دو تا بین هورون و باولینگ‌گرین و دیگری بین باولینگ‌گرین و ویندفال مشترک بودند. به غیر از این ده عدد VCG، بقیه گروههای سازگار رویشی گروههایی بودند که فقط در مناطق منشاء وجود داشتند. تقریباً همین وضعیت نیز در مورد جدایه‌های



بدست آمده از رقم ۳۴۷۵ مشاهده شد. از مجموع ۱۰۳ VCG شناخته شده در بین جدایه‌های قارچی بدست آمده از این رقم، هفت عدد در بیش از یک منطقه مشترک بودند. یکی از این گروه‌ها با داشتن شش عضو در سه ناحیه پرینستون، هورون، گاردن‌سیتی، دیگری با داشتن پنج عضو در سه ناحیه شلبی‌ویل، یورک و ماریون و پنج گروه باقیمانده هرکدام با دو عضو در مناطق ماریون و آلگونا (۲ عدد)، جانستن و شلبی‌ویل (۲ عدد)، یورک و نورث‌پلات (۱ عدد) مشترک بودند.

برای تعیین گروه‌های سازگار رویشی بین جدایه‌های قارچی بدست آمده از هر دو رقم ذرت هیبرید در هر منطقه، نمایندگانی از گروه‌های سازگار رویشی مشخص شده در هر منطقه برای هر رقم انتخاب و با هم جفت شدند. نتایج حاصله نشان داد که تنها در پنج منطقه ماریون، شلبی‌ویل، گاردن‌سیتی، هورون و ویندفال گروه‌های سازگار رویشی مشترک بین جدایه‌های قارچی بدست آمده از بذور دو رقم ذرت هیبرید وجود داشت (جدول ۱). همانطوریکه از جدول یک برمی‌آید از مجموع ۱۹۴ VCG مشخص شده در این مطالعه تنها هفت عدد از آنها بین جدایه‌های قارچی بدست آمده از بذور دو رقم ذرت هیبرید در پنج منطقه فوق مشترک بودند. در بین VCG های مشترک بزرگترین آنها در منطقه ماریون وجود داشت که ۲۲ جدایه یعنی حدود ۶۹٪ از کل جدایه های بدست آمده از دو رقم ذرت هیبرید را در منطقه در بر داشت. با وجود این، اعضاء این گروه تنها حدود ۵٪ از کل جمعیت قارچی را تشکیل داده و بغیر از منطقه ماریون در هیچ یک از دیگر مناطق مورد مطالعه یافت نشدند.

برای تشخیص تنوع در جمعیت قارچ‌های مختلف علاوه بر استفاده از خصوصیات فنوتیپی و فیزیولوژیکی قارچ (۱۰) از نشانگرهای ژنتیکی متفاوتی (۲۶، ۲۹، ۳۲) استفاده بعمل می‌آید. از خصوصیات فنوتیپی که جهت بیان تنوع در قارچ فوزاریوم مورد استفاده قرار گرفته‌اند مرفولوژی کلنی (۳۴، ۱۰، ۴) و مرفولوژی اندامهای زایشی غیرجنسی می‌باشند (۳۴، ۲۶، ۴). براساس چنین خصوصیات جنس فوزاریوم را به چندین گونه تقسیم نموده‌اند (۴، ۳۴). با وجود این، خصوصیات مرفولوژیکی بسیار متغیر بوده و تحت تاثیر شرایط

محیطی قرار می‌گیرند (۲۶). تغییر در مرفولوژی کلنی و اندامهای زایشی غیرجنسی در شرایط مختلف محیطی از پدیده‌های بسیار رایج در *Fusarium spp.* می‌باشد (۴). در نتیجه این تغییرات، خصوصیات مرفولوژیکی معیار درستی برای بررسی تنوع در جمعیت نمی‌باشند. یکی دیگر از روشهای مورد استفاده جهت بررسی تنوع، اثبات بیماریزایی جدایه یا جدایه‌های مورد نظر می‌باشد که بدون شک جزو مهمترین و دقیقترین راههای تشخیص تنوع در میان جدایه‌های قارچی بحساب می‌آید (۱۷، ۹). این مسئله مخصوصاً در مورد *F. oxysporum* که تعداد زیادی فرم مخصوص دارد مهم می‌باشد، زیرا که تشخیص این فرم‌های مخصوص از طریق اثبات بیماریزایی آنها روی گونه‌های بخصوصی از گیاهان میزبان امکان‌پذیر بوده و در حالتی که فرم مخصوص دارای نژادهای متفاوت باشد، تشخیص نژاد تنها از طریق اثبات بیماریزایی آن روی رقم خاص از گونه بخصوص گیاه میزبان صورت می‌گیرد (۱۵، ۹). از اشکالات عمده اثبات بیماریزایی این است که انجام چنین آزمایشاتی نه تنها به چندین هفته زمان بلکه به مقادیر زیادی فضای گلخانه‌ای و نیز مواد گیاهی نیاز دارد که اغلب به دلایل مختلف در دسترس نمی‌باشند. از این گذشته نشان داده شده است که بیماریزایی نیز تحت تأثیر متغیرهایی از قبیل درجه حرارت، سن میزبان و روش مایه‌کوبی قرار می‌گیرد (۹).

مطالعه گروههای سازگار رویشی یکی دیگر از روشهایی است که جهت تعیین تنوع در ساختار جمعیتی قارچهای مختلف از جمله فوزاریوم مورد استفاده قرار گرفته (۳۶، ۳۵، ۳۲، ۲۹، ۲۶، ۲۳، ۱۹، ۱۰، ۸، ۵، ۱) و در طول دوده گذشته نظر بسیاری از علاقمندان به مطالعه درباره ژنتیک جمعیت را بخود جلب نموده است. در این روش توانایی جدایه‌های مختلف برای تشکیل هتروکاریون تعیین می‌شود. جدایه‌هایی که با همدیگر تشکیل هتروکاریون می‌دهند از نظر رویشی سازگار بوده و تشکیل یک گروه سازگار رویشی را می‌دهند و برعکس (۳۶، ۳۵، ۲۹). علیرغم نظریات اولیه مبنی بر اینکه این روش قادر است جدایه‌های مختلف جنس فوزاریوم را تا حد گونه، فرم مخصوص و نژاد از طریق ژنتیکی و مستقل از مرفولوژی، فیزیولوژی و بیماریزایی تشخیص دهد (۳۶، ۲۲، ۱۰، ۵) مطالعات بعدی روشن نمود که نتایج حاصل از تحقیقات عملی در تمام موارد مؤید عقاید نظریه‌پردازان نیست و این روش نیز دارای نارساییهای خاص خود می‌باشد (۳۲، ۱۷، ۱۵، ۲). علیرغم وجود این اشکالات، استفاده از



گروه‌های سازگار رویشی، یک روش نسبتاً ساده را برای تشخیص جدایه‌های مختلف قارچ‌هایی مثل *F. moniliforme* که از نظر مورفولوژیکی شبیه می‌باشند فراهم نموده است. جدایه‌های سازگار در این قارچ حداقل در ۱۰ لوکوس و یک مشابهت داشته، ولی جدایه‌های ناسازگار در یک یا تعداد بیشتری از این لوکوسها تفاوت دارند (۲۵). در این مطالعه تعداد ۳۷۳ جدایه *F. moniliforme* از بذور دو رقم ذرت هیبرید که در ۱۲ ناحیه مختلف در بخش شمال مرکزی آمریکا رشد کرده بودند مورد استفاده قرار گرفت. این جدایه‌ها در ۱۹۴ گروه سازگار رویشی مختلف قرار گرفتند. توزیع گروه‌های سازگار رویشی درون هر منطقه و بین مناطق مختلف به گونه‌ای بود که هیچ رابطه خاصی بین *VCG* و منشاء جغرافیایی جدایه‌ها مشاهده نشد. این یافته موافق نظر بعضی از محققین (۲۰، ۱۷) و مخالف یافته بعضی دیگر از پژوهشگران (۷) در مورد ارتباط بین *VCG* و مناطق جغرافیایی می‌باشد. یافته‌های این مطالعه هم‌چنین بیانگر عدم وجود ارتباطی خاص بین *VCG* و ارقام متفاوت ذرت می‌باشد. بر اساس تعداد گروه‌های سازگار رویشی پیدا شده در این مطالعه، به نظر می‌رسد که تنوع گروه‌های سازگار رویشی در جمعیت قارچ *F. moniliforme* بسیار زیاد باشد. نتایج این مطالعه نشان دهنده تنوع زیاد در جمعیت‌های قارچ جدا شده از ارقام متفاوت در هر منطقه و بین مناطق مختلف می‌باشد. بعلاوه نتایج منتشر نشده از بررسی‌های انجام شده توسط نگارنده وجود تنوع را در بین جدایه‌های مختلف از یک بذر نشان می‌دهد. این تنوع زیاد در جمعیت پاتوژن باعث ایجاد اشکال در امر اصلاح گیاه ذرت به منظور تهیه واریته‌های مقاوم در مقابل بیماری‌های ناشی از قارچ *F. moniliforme* و نیز در امر توسعه یک راه مبارزه جهت کنترل بیماری می‌باشد.

#### REFERENCES:

منابع:

- 1- AHN, I.P., CHUNG, H.S., & LEE, Y.H. 1998. Vegetative compatibility groups and pathogenecity among isolates of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum*. *Plant Disease* 82: 244-246.
- 2- APPEL, D.J. and GORDON, T.R. 1994. Local and regional variation in populations of *Fusarium oxysporum* from

- agricultural field soils. *Phytopathology* 84: 786-791.
- 3- BACON, C.W., MARIJANOVIC, D.R., NORRED, W.P. & HINTON, D.M. 1989. Production of Fusarin C on cereal and soybean by *Fusarium moniliforme*. *Applied and Environmental Microbiology* 55: 2745-2748.
- 4- BOOTH, C. 1971. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute. Kew. Surrey, England, 237 PP.
- 5- BOSLAND, P.W. & WILLIAMS, P.H. 1987. An evaluation of *Fusarium oxysporum* from crucifers based on pathogenicity, isozyme, polymorphism, vegetative compatibility and geographical origin. *Canadian Journal of Botany* 62:2067-2073.
- 6- BOWDEN, R.L., & LESLIE, J.F. 1992. Nitrate-nonutilizing mutants of *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*) and their use in determining vegetative compatibility. *Experimental Mycology* 16: 308-315.
- 7- CLARK, C.A., HOY, M.W. and NELSON, P.E. 1995. Variation among isolates of *Fusarium lateritium* from sweetpotato for pathogenicity and vegetative compatibility. *Phytopathology* 85: 624-629.
- 8- CORRELL, J.C. 1991. The relationship between formae speciales, races, and vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 81: 1061-1064.
- 9- CORRELL, J.C., KLITTICH, C.J.R., & LESLIE, J.F. 1987. Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative compatibility tests. *Phytopathology* 77:



- 1640-1646.
- 10- CORRELL, J.C., PUHALLA, J.E., & SCHNEIDER, R.W. 1986. Identification of *Fusarium oxysporum* f.sp. *apii* on the basis of colony size, virulence and vegetative compatibility. *Phytopathology* 76: 396-400.
- 11- CORRELL, J.C., PUHALLA, J.E. & SCHNEIDER, R.W. 1986. Vegetative compatibility groups among nonpathogenic root-colonizing strains of *Fusarium oxysporum*. *Canadian Journal of Botany* 64: 2358-2361.
- 12- CORRELL, J.C., PUHALLA, J.E., SCHNEIDER, R.W. & KRAFT, J.M. 1985. Differentiating races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *pisi* based on vegetative compatibility (Abstr.) *Phytopathology* 75: 1347.
- 13- COVE, D.J. 1976. Chlorate toxicity in *Aspergillus nidulans*: the selection and characterization of chlorate resistant mutants. *Heredity* 36: 191-203.
- 14- CROFT, J.H., & JINKS, J.L. 1977. Aspects of the population genetics of *Aspergillus nidulans*. PP. 339-60 In: *Genetics and Physiology of Aspergillus*, J.E. SMITH, J.A. PATEMAN, Eds NewYork, Academic press.
- 15- ELIAS, K.S. and SCHNEIDER, R.W. 1991. Vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Phytopathology* 81: 159-162.

- 16- EL-MELEIGI, M.A., CLAFLIN, L.E., & RANEY, R.J. 1983. Effect of seedborne *Fusarium moniliforme* and irrigation scheduling on colonization of roots and stalk tissue, stalk root incidence, and grain yields. *Crop Science* 23: 1025-1028.
- 17- ELMER, W.H., & STEPHENS, C.T. 1989. Classification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi* into vegetatively compatible groups. *Phytopathology* 79: 88-93.
- 18- GARRAWAY, M.O., & EVANS, R.C. 1984. *Fungal Nutrition & Physiology*. John Wiley & Sons, New York. 401 PP.
- 19- GORDON, T.R., CORRELL, J.C. & MCCAIN, A.H. 1986. Host specificity and vegetative compatibility in *Verticillium albo-atrum* (Abstr.) *Phytopathology* 76: 1111.
- 20- GORDON, T.R. and OKAMOTO, D. 1992. Variation within and between populations of *Fusarium oxysporum* based on vegetative compatibility and mitochondrial DNA. *Canadian Journal of Botany* 70: 1211-1217.
- 21- JOFFE, A.Z. 1986. *Fusarium* species: Their Biology and Toxicology 588 PP.
- 22- KATAN, T., & KATAN, J. 1988. Vegetative compatibility grouping of *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* from tissue and the rhizosphere of cotton plants. *Phytopathology* 78:852-855.
- 23- KATAN, T., KATAN, J., GORDON, T.R., & POZNIAK, D. 1994. Physiologic races and vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* in Israel. *Phytopathology* 84: 153-157.



- 24- KATAN, T. & SHABI, E. 1996. Vegetative compatibility among isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* from almond in Israel. *European Journal of Plant Pathology* 102: 597-600.
- 25- KEDERA, C.J., LESLIE, J.F. and CLAFLIN, L.E. 1994. Genetic diversity of *Fusarium* section *Liseola* (*Gibberella fujikuroi*) in individual maize stalks. *Phytopathology* 84: 603-607.
- 26- KISTLER, H.C. 1997. Genetic diversity in the plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 87: 474-479.
- 27- KLITTICH, C.J.R. & LESLIE, J. F. 1988. Nitrate reduction mutant of *Fusarium moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*). *Genetics* 118:417- 423.
- 28- KLITTICH, C.J.R., CORRELL, J.C. & LESLIE, J.F. 1988. Inheritance of sectoring frequency in *Fusarium moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*). *Experimental Mycology* 12: 289-294
- 29- LESLIE, J.F. 1993. Fungal vegetative compatibility. *Annual Review of Phytopathology* 31:127-50.
- 30- MARASAS, W.F.O., KRIEK, N.P.J., WIGGINS, V.M., STEYN, P.S., TOWERS, D.K., & HASTIE, T.J. 1979. Incidence, geographic distribution, and toxigenicity of *Fusarium* species in south African corn. *Phytopathology* 69: 1181-1185.
- 31- MARTIN, S.B. 1988. Identification, Isolation frequency, and pathogenicity of anastomosis groups of binucleate *Rhizoctonia* spp from strawberry roots. *Phytopathology* 78: 379-384.
- 32- MCDONALD, B.A. 1997. The population genetics of fungi: Tools and Techniques. *Phytopathology* 87: 448-453.

- 33- NASH, S.M. & SNYDER, W.C. 1962. Quantitative estimation of propagules of the bean root rot *Fusarium* in field soils by plate counts. *Phytopathology* 52: 567-572.
- 34- NELSON, P.E., TOUSSOUN, T.A., & MARASAS, W.F.O. 1983. *Fusarium* species: An Illustrated Manual for Identification. Pennsylvania State University Press, University Park, Pennsylvania 193 pp.
- 35- PLOETZ, R. & CORRELL, J.C. 1988. Vegetative compatibility among races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. *Plant Disease* 72: 325-328.
- 36- PUHALLA, J.E. 1985. Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Canadian Journal of Botany* 63: 179-183.
- 37- PUHALLA, J.E., and HUMMEL, M. 1983. Vegetative compatibility groups within *Verticillium dahliae*. *Phytopathology* 73: 1305-1308.
- 38- PUHALLA, J.E. & SPIETH, P.T., 1983. Heterokaryosis in *Fusarium moniliforme*. *Experimental Mycology* 7: 328-335.
- 39- PUHALLA, J.E. & SPIETH, P.T. 1985. A comparison of heterokaryosis & vegetative incompatibility among varieties of *Gibberella fujikuroi* (*Fusarium moniliforme*). *Experimental Mycology* 9: 39-47.
- 40- RAYNER, A.D.M. 1991. The Phytopathological significance of mycelial individualism. *Annual Review of Phytopathology* 29: 305-23.



**INVESTIGATION ON GENETIC DIVERSITY IN  
*FUSARIUM MONILIFORME* POPULATIONS  
ISOLATED FROM TWO CORN SEEDS  
CULTIVARS USING VEGETATIVE  
COMPATIBILITY GROUPS**

**R. Farrokhi - Nejad<sup>1</sup>**

**Key words:** diversity , vegetative compatibility group , *Fusarium*, heterokaryon, mutant, nit

**SUMMARY**

Three hundred and seventy three isolates of *Fusarium moniliforme* were recovered from two corn seeds from two cultivars both grown at 12 locations in the North Central United States. For these isolates , 2888 *nit* mutants (1298 *nit* mutants were from isolates of cultivar 3377 , and the rest from isolates of cultivar 3475) were generated using minimal medium containing potassium chlorate . *nit* mutants were divided into three phenotypic classes (*nit1* , *nit3*, and NitM) based on their growth on the medium containing different nitrogen sources. Of the *nit* mutants obtained from isolates of cultivar 3377 , 25% , 45% and 30% , and of the *nit* mutants obtained from isolates of cultivar 3475 , 18% , 53% and 29% were NitM , *nit1*, and *nit3* , respectively . *nit* mutants were used to force heterokaryon to determine distribution of vegetative compatibility groups (VCGs)

---

1- Department of Plant Protection. Shahid Chamran University.

within and between seed lots for corn cultivars 3377 and 3475. Of the 194 VCGs identified, 134 were represented each by a single isolate. These kinds of VCGs comprised 33-87% and 33-88% of the VCGs found in seed lots for cultivars 3377 and 3475, respectively. Of the 91 and 103 VCGs identified for the cultivars 3377 and 3475, respectively 10 and seven VCGs were found at more than one site. At five locations, isolates in a common VCG were recovered from both cultivars. At one location 69% of its isolates belonged to a single VCG, which was the largest VCG identified in this study, but no members of this group were found at any other location. Isolates belonging to this group comprised only 5% within the population as a whole. These data suggest that the population of *F. moniliforme* are highly localized, and are genetically diverse, and that seed corn movement could provide a mechanism to explain the variability observed in commercial fields.