



## Variation in mating type genotypes, mycelial compatibility groups, and aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates in sunflower and cabbage fields located in West Azarbaijan province

M. Faraghati <sup>1</sup>, M. Abrinbana <sup>2\*</sup>, Y. Ghosta <sup>2</sup>

1. M.Sc. of Plant Pathology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
2. \*Corresponding Author: Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran (abrinbana@gmail.com)

Received: 18 June 2024

Revised: 29 July 2024

Accepted: 2 September 2024

### Abstract

**Background and Objectives:** *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary is a globally distributed necrotrophic fungus that infects a wide range of plants. An in-depth analysis of aggressiveness variation, diversity of mycelial compatibility groups (MCGs), and the occurrence of sexual reproduction via the methods, such as mating type genotype determination can provide valuable insights into the genetic diversity, and evolutionary potential of this fungus. In West Azarbaijan province, *S. sclerotiorum* poses a significant threat to sunflower and cabbage crops, causing considerable losses. Nevertheless, there is a dearth of research that compares the aggressiveness diversities and MCG of fungal isolates from these two hosts. Additionally, there is presently no information available regarding the mating type genotypes of the pathogen populations in the province. This study was conducted to investigate, and compare MCGs and aggressiveness diversity in *S. sclerotiorum* populations from sunflower, and cabbage fields in West Azarbaijan province. The research also aimed to identify mating type genotypes, and compare their aggressiveness diversity.

**Materials and Methods:** This study examined 136 *S. sclerotiorum* isolates collected from sunflower, and cabbage fields in Urmia, Salmas, and Khoy in West Azarbaijan province, Iran. The mating type alleles of the isolates were determined using specific primers. Isolates in which either Inv+ *MAT* (inversion positive) or Inv- *MAT* allele was detected were classified as Inv+ *MAT* or Inv- *MAT* genotype, respectively. Isolates showing amplification of both alleles were categorized as heterokaryon genotypes. The MCGs of isolates were determined by pairing them in all possible combinations on potato dextrose agar. To evaluate MCG diversity, MCG richness (ratio of different MCGs) was calculated for the populations. The aggressiveness of 80 isolates was evaluated by inoculating them on detached leaves of sunflower and cabbage, and then measuring the diameters of the resulting lesions five days after the inoculation. Lesion diameter data were analyzed using a general linear model and means were compared using Tukey–Kramer honestly significant difference.

**Results:** The primers successfully amplified *MAT* alleles in the isolates, leading to the identification of three genotypes, Inv- *MAT*, Inv+ *MAT*, and heterokaryon. The Inv- *MAT* genotype was the most frequent genotype in all regions and on sunflower, while heterokaryon genotype was more common among cabbage isolates. A total of 17 MCGs were identified in the 136 isolates. Eleven of these MCGs had multiple isolates, with MCG1, MCG2, and MCG3 having the highest number of isolates,

respectively. MCG1 and MCG6 were found in all three studied regions and on both hosts, while MCG4 was detected in Urmia and Salmas on both hosts. The total MCG richness among all 136 isolates was 12.5%, with cabbage isolates exhibiting a greater MCG richness of 18.6% than sunflower isolates, which had a smaller MCG richness of 12.9%. Salmas had the highest level of diversity among the regional populations, with a mean MCG richness of 29.6%. A significant difference in lesion diameter on detached leaves of sunflower and cabbage was observed among the isolates. Significant differences were observed in the lesion diameters of isolates from hosts, *MAT* genotypes, and MCGs. The isolates from cabbage, and those with a heterokaryon genotype demonstrated higher aggressiveness compared to sunflower isolates, and other *MAT* genotypes, respectively.

**Discussion:** The presence of inversion in the *MAT* locus reveals the occurrence of sexual reproduction in the province. The existence of heterokaryon genotype indicates the outcrossing of fungus in the region. Increased genetic diversity may result from this event, which would improve the pathogen's potential for evolution and adaptation. The study's findings indicated a low number and richness of MCG in the province, which may be explained by the region's fungal isolates' reduced availability of alleles at gene loci related to mycelial compatibility. A significant variation in aggressiveness was observed among isolates on sunflower and cabbage leaves. The presence of the heterokaryon genotype and inversion at the *MAT* locus, coupled with the diversity in aggressiveness, indicate the high evolutionary potential and adaptability of the fungus in the province, which could impact the effectiveness of fungicides, and resistant cultivars used for controlling this pathogen. To improve the effectiveness of resistant cultivars, it is crucial to screen cultivars using multiple isolates from diverse MCGs, regions, and hosts.

**Keywords:** *Sclerotinia rot, White mold, Genetic diversity, Evolutionary potential, Disease management*

Associate editor: S. Abasi (Ph.D.)

**Citation:** Faraghati, M., Abrinbana, M. & Ghosta, Y. (2024). Variation in mating type genotypes, mycelial compatibility groups, and aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates in sunflower and cabbage fields located in West Azarbaijan province. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 47(2), 89-106. <https://doi.org/10.22055/ppr.2024.47211.1750>.



گیاه پزشکی (مجله علمی کشاورزی)

جلد ۴۷، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳

doi 10.22055/ppr.2024.47211.1750

## تنوع ژنوتیپ‌های تپ آمیزشی، گروه‌های سازگار میسلومی و قدرت تهاجمی جدایه‌های *Sclerotinia sclerotiorum* در مزارع آفتابگردان و کلم استان آذربایجان غربی

معصومه فراغتی<sup>۱</sup>، مسعود ابرین بنا<sup>۲\*</sup>، یوبرت قوستا<sup>۲</sup>

۱- کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲- \*نویسنده مسوول: دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (abrinbana@gmail.com)

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۱۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۵/۰۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۲۹

### چکیده

قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary یک بیمارگر مهم با پراکنش جهانی است که طیف وسیعی از گیاهان را آلوده می‌کند. در این مطالعه، تنوع ژنوتیپ‌های تپ‌های آمیزشی، گروه‌های سازگار رویشی و قدرت تهاجم در ۱۳۶ جدایه بدست آمده از مزارع آفتابگردان و کلم واقع در مناطق مختلف استان آذربایجان غربی مورد بررسی قرار گرفت. بررسی تپ‌های آمیزشی جدایه‌ها وجود هر سه ژنوتیپ را در جمعیت‌ها نشان داد و بیش از نیمی از جدایه‌ها به عنوان ژنوتیپ *Inv-MAT* شناسایی شدند. در بین جدایه‌ها ۱۷ گروه سازگار میسلومی شناسایی گردید که برخی از آنها در بیش از یک منطقه و روی هر دو میزبان پراکنده بودند. با اینکه جدایه‌ها از لحاظ قدرت تهاجم روی برگ‌های بریده آفتابگردان و کلم متنوع بودند، اما فقط چند جدایه با بیشترین قدرت تهاجمی، اختلاف معنی‌داری با سایر جدایه‌ها داشتند. میانگین قدرت تهاجمی جدایه‌های متعلق به مناطق، میزبان‌ها، گروه‌های سازگار رویشی و ژنوتیپ‌های تپ‌های آمیزشی اختلاف معنی‌داری با همدیگر داشتند. در مجموع، به دلیل تنوع قدرت تهاجمی جدایه‌ها و وجود ژنوتیپ هتروکاریون و نیز وارونگی در مکان ژنی تپ آمیزشی که بیانگر وقوع تولیدمثل جنسی در قارچ است، به نظر می‌رسد که جمعیت‌های قارچ در استان پتانسیل تکاملی و قدرت سازگاری بالایی دارند که می‌توانند کارآیی روش‌های کنترل این بیمارگر را تحت تاثیر قرار دهد. برای افزایش کارآیی و دوام ارقام مقاوم، بایستی غربالگری ارقام با استفاده از جدایه‌های متعدد از گروه‌های سازگار میسلومی، مناطق و میزبان‌های مختلف انجام گیرد.

کلیدواژه‌ها: پوسیدگی اسکروتینیایی، کپک سفید، تنوع ژنتیکی، پتانسیل تکاملی، مدیریت بیماری

دبیر تخصصی: دکتر سعید عباسی

## مقدمه

قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary یک بیمارگر مهم خاکزاد است که طیف وسیعی از محصولات مهم را در سراسر جهان آلوده می‌کند و در شرایط مساعد محیطی می‌تواند خسارت قابل توجهی به آنها وارد کند (Bolton et al., 2006; Saharan and Mehta, 2008). در ایران این قارچ از گیاهان متعددی گزارش شده است و بیماری‌های کپک سفید<sup>۱</sup>، پوسیدگی سر<sup>۲</sup> و پوسیدگی ریشه، طوقه و ساقه ناشی از آلودگی به این بیمارگر، از جمله بیماری‌های مهم محصولاتی مانند آفتابگردان، کلزا و کلم به شمار می‌روند (Vakili Zarej & Rahnama, 2008; Barari et al., 2011; Yousefdoost & Ghosta, 2015; Molaei et al., 2020; Faraghati et al., 2022).

سازگاری میسلیمی یا توانایی ترکیب ریشه‌های دو جدایه، یک سیستم تشخیص خودی از غیرخودی در قارچ‌هایی مانند *S. sclerotiorum* است که توسط چندین جایگاه ژنی<sup>۳</sup> کنترل می‌شود (Kohn et al., 1990, 1991; Glass et al., 2000). هنگامی که دو جدایه قارچی دارای ژن‌های متفاوت در این جایگاه‌ها باشند، قادر به ادغام ریشه‌های خود برای تشکیل هتروکاریون پایدار نخواهند بود که این حالت منجر به ناسازگاری رویشی می‌شود و هر جدایه در گروه‌های سازگار میسلیمی یا MCGs<sup>۴</sup> مختلف گروه‌بندی می‌شوند. بر همین اساس، MCG به عنوان نشانگر فنوتیپی برای ارزیابی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های *S. sclerotiorum* در مناطق و میزبان‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفته است (Kohn et al., 1990, 1991; Hambleton et al., 2002; Attanayake et al., 2013; Lehner et al., 2017, 2019; Abán et al., 2018). در ایران، MCG در جمعیت‌های *S. sclerotiorum* در مزارع آفتابگردان، کلزا، سیب‌زمینی و کلم تعیین شده است که نتایج بیانگر درجات مختلفی از تنوع قارچ در مناطق مورد

بررسی است (Vakili Zarej & Rahnama, 2008; Barari et al., 2011; Irani et al., 2011; Karimi et al., 2012; Yousefdoost & Ghosta, 2015).

گونه *S. sclerotiorum* یک قارچ هموتال است که به صورت خودلقاحی و دگرلقاحی تولیدمثل جنسی انجام می‌دهد. در این بیمارگر، هر جدایه دارای هر دو ایدیومورف کنترل‌کننده سازگاری جنسی یعنی *MAT1-1* و *MAT1-2* است که در مجاورت همدیگر در یک جایگاه ژنی قرار گرفته‌اند و هر کدام از دو ژن تشکیل شده است (Amselem et al., 2011). در سال ۲۰۱۳ یک تپ آمیزشی یا *MAT*<sup>۵</sup> جدید در این قارچ شناسایی شد که در مقایسه با الل شناخته شده قبلی، یک ناحیه به طول ۳۶۰۰ جفت باز در آن وارونه<sup>۶</sup> شده است و به همین دلیل به عنوان *MAT*<sup>۷</sup> نامیده شد (Chitrampalam et al., 2013). بر همین اساس، الل قبلی که فاقد وارونگی است، *MAT*<sup>۸</sup> نامگذاری گردید. با اینکه این وارونگی در سه ژن از چهار ژن تپ آمیزشی رخ می‌دهد، جدایه‌های *MAT*<sup>۷</sup> نیز مانند *MAT*<sup>۸</sup> قادر به انجام تولیدمثل جنسی هستند. شواهد نشان داده است که رویداد واژگونی فقط به هنگام تولیدمثل جنسی اتفاق می‌افتد و در طی آن، دو حالت *MAT*<sup>۷</sup> و *MAT*<sup>۸</sup> می‌توانند به یکدیگر تبدیل شوند (Chitrampalam et al., 2013). یافته‌های مطالعه بعدی (Chitrampalam et al., 2015) مشخص نمود که *S. sclerotiorum* در طبیعت دارای سه ژنوتیپ *MAT* شامل *MAT*<sup>۷</sup>، *MAT*<sup>۸</sup> و *MAT*<sup>۹</sup> هتروکاریون می‌باشد که ژنوتیپ‌های اول و دوم، هر کدام دارای یک الل بوده و هموکاریون هستند ولی ژنوتیپ هتروکاریون حاوی هر دو الل در ژنوم خود است. بررسی ۱۶۴ جدایه *S. sclerotiorum* بدست آمده از ۲۲ ایالت آمریکا نیز نشان داد که حدود ۵۵ درصد جدایه‌ها هتروکاریون بودند (Chitrampalam et al., 2015).

5- Mating type

6- Invert

7- Inversion positive *MAT* allele

8- Inversion negative *MAT* allele

1- White mold

2- Head rot

3- Locus

4- Mycelial compatibility groups

قارچ‌کش‌ها ضروری است. تاکنون مطالعات متعددی در زمینه شناسایی ارقام و ژنوتیپ‌های مقاوم آفتابگردان در استان انجام گرفته است و نشانگرهای مولکولی پیوسته به نواحی ژنومی دخیل در مقاومت به *S. sclerotiorum* در تعدادی از ارقام مقاوم شناسایی شده است (Davar et al., 2010; Najafzadeh et al., 2019; Mousa Khalifani et al., 2018). علاوه بر این، حساسیت جدایه‌های قارچی نسبت به تعدادی از قارچ‌کش‌های سیستمیک نیز مورد بررسی قرار گرفته است (Molaei et al., 2020). با این حال، بکارگیری روش‌های مدیریتی و توسعه ارقامی با مقاومت پایدار و موثر، نیازمند اطلاعاتی در مورد تنوع جمعیت‌های *S. sclerotiorum* در استان است. با اینکه مطالعات جداگانه‌ای در زمینه تنوع گروه‌های سازگار رویشی و قدرت تهاجمی قارچ در مزارع آفتابگردان (Iran et al., 2011) و کلم (Yousefdoost & Ghosta, 2015) در آذربایجان غربی انجام گرفته است، اما تاکنون هیچ تحقیقی تنوع گروه‌های سازگار رویشی و قدرت تهاجمی جمعیت‌های قارچ را در دو میزبان مقایسه نکرده است و اطلاعاتی در مورد ژنوتیپ‌های تیپ‌های آمیزشی در استان و حتی سایر نقاط کشور وجود ندارد. بر همین اساس، تحقیق حاضر با هدف بررسی و مقایسه گروه‌های سازگار رویشی و قدرت تهاجمی جمعیت‌های *S. sclerotiorum* در مزارع آفتابگردان و کلم واقع در مناطق مهم تحت کشت این محصولات در استان آذربایجان غربی و ردیابی ژنوتیپ‌های تیپ‌های آمیزشی و مقایسه قدرت تهاجمی آنها انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

### جدایه‌های *S. sclerotiorum*

در این تحقیق ۱۳۶ جدایه *S. sclerotiorum* مورد بررسی قرار گرفت که تعداد ۹۳ جدایه قبلاً از مزارع تحت کشت آفتابگردان در ارومیه، خوی و سلماس جمع‌آوری شده بودند (Molaei et al., 2020) و ۴۳ جدایه از مزارع مختلف تحت کشت کلم در اطراف ارومیه بدست آمد. همه جدایه‌ها طی دو مرحله و از طریق برداشتن تک‌سختینه‌ها و سپس برداشتن نوک ریشه‌ها خالص‌سازی

قدرت تهاجم<sup>۱</sup> صفت مهمی است که می‌تواند بر کارآیی و پایداری مقاومت در ارقام مقاوم به *S. sclerotiorum* در مزرعه تاثیر بگذارد و به همین دلیل، بررسی این صفت همواره مورد توجه بیماری‌شناسان و حتی به‌نژادگران قرار گرفته است. در حالی که برخی از تحقیقات اختلاف معنی‌داری را در سطوح قدرت تهاجم جدایه‌های *S. sclerotiorum* نشان نداده‌اند (Atallah et al., 2004; Sexton & Howlett, 2004; Bolton et al., 2006; Lehner et al., 2016)، مطالعات دیگر، طیفی از قدرت تهاجم بین جدایه‌های قارچ را گزارش کرده‌اند که در مواردی اختلاف معنی‌داری فقط بین جدایه‌های بسیار مهاجم و کمتر مهاجم مشاهده شده است (Ekins et al., 2007; Garg et al., 2010; Otto-Hanson et al., 2011; Miorini et al., 2019). با وجود فقدان شواهد قطعی مبنی بر تخصص‌یافتگی میزبانی در بین جدایه‌های *S. sclerotiorum* (Purdy, 1979; Derbyshire et al., 2022)، در موارد معدودی اختلاف قابل توجه و معنی‌داری در قدرت تهاجم جدایه‌های به دست آمده از میزبان‌های مختلف گزارش شده است (Durman et al., 2003).

در ایران *S. sclerotiorum* برای اولین بار در سال ۱۹۵۳ از تره (*Allium porrum* L.) جداسازی و معرفی گردید و پس از آن از میزبان‌های متعددی در استان‌های مختلف گزارش شد (Ershad, 2009). تحقیقات انجام شده در برخی نواحی کشور حاکی از تنوع قدرت تهاجم و گروه‌های سازگار رویشی در جمعیت‌های قارچ است (Vakili Zarej & Rahnema, 2008; Barari et al., 2011; Irani et al., 2011; Karimi et al., 2011; Ojaghian & Xie, 2012). این گونه به عنوان مهم‌ترین و شایع‌ترین بیمارگر آفتابگردان در استان آذربایجان غربی شناخته می‌شود و در مزارع کلم نیز خسارت قابل توجهی را به محصول وارد می‌کند (Yousefdoost & Ghosta, 2015; Molaei et al., 2020; Faraghati et al., 2022). بنابراین، با توجه به شیوع گسترده و خسارت‌زایی *S. sclerotiorum* در مزارع، مدیریت و کنترل بیمارگر با روش‌هایی مانند استفاده از ارقام مقاوم

اسید بوریک، ۲ میلی‌مولار EDTA) با غلظت ۱X، الکتروفورز شدند. در این الکتروفورزها ExcelBand™ 100bp+3K DNA Ladder (ساخت شرکت SMOBIO، تایوان) به عنوان نشانگر اندازه مورد استفاده قرار گرفت. تکثیر قطعات DNA به طول ۶۷۱ و ۱۳۰۶ جفت باز به ترتیب نشان دهنده ال *Inv- MAT* و *Inv+ MAT* بود (Chitrampalam et al., 2013). با توجه به وجود ال یا ال‌های تیپ آمیزشی، برای هر جدایه یک ژنوتیپ *MAT* در نظر گرفته شد. جدایه‌هایی که در آنها یکی از ال‌های *Inv- MAT* یا *Inv+ MAT* تکثیر شده بود به ترتیب به عنوان ژنوتیپ‌های *Inv- MAT* و *Inv+ MAT* در نظر گرفته شدند و جدایه‌هایی که در آنها هر دو ال تکثیر شده بود، به عنوان ژنوتیپ هتروکاریون در نظر گرفته شدند (Chitrampalam et al., 2015).

#### بررسی گروه‌های سازگار میسلیمی

تعیین گروه‌های سازگار میسلیمی جدایه‌ها از طریق کشت متقابل آن‌ها روی محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (PDA) همراه با رنگ غذایی مک کورمیک<sup>۴</sup> (۱۷۵ میکرولیتر بر لیتر) در تشتک‌های پتری ۱۰ سانتی‌متری انجام گرفت. بدین منظور، یک حلقه محیط کشت به همراه میسلیوم (از کشت سه روزه) مربوط به یک جدایه در وسط تشتک قرار داده شد و در اطراف آن به فاصله حدود ۲ سانتی‌متر، حلقه‌هایی در حاشیه تشتک گذاشته شد که یکی از آنها مربوط به همان جدایه‌ای بود که در وسط قرار داده شده بود (شاهد) و بقیه متعلق به جدایه‌های مختلف بودند. همه ۱۳۶ جدایه به صورت متقابل و در تمامی ترکیبات ممکن، با سه تکرار برای هر ترکیب، کشت شدند و به انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس و با شرایط تاریکی انتقال یافتند. پس از هفت روز، تشتک‌های پتری مورد بررسی قرار گرفتند و جدایه‌هایی که پرگنه آنها با همدیگر ادغام شده بود، به عنوان سازگار شناسایی شدند در حالی که وجود ناحیه عاری از میسلیوم یا میسلیوم پراکنده بین پرگنه‌ها،

شدند و تنوع ژنتیکی آنها با استفاده از نشانگرهای مولکولی تعیین شده است (Faraghati et al., 2022).

#### تعیین ال‌ها و ژنوتیپ‌های تیپ آمیزشی در جدایه‌های *S. sclerotiorum*

جدایه‌ها به طور جداگانه در لوله‌های فالکون ۵۰ میلی‌لیتری حاوی محیط کشت مایع PDB<sup>۱</sup> کشت داده شدند. پس از ده روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی، DNA ژنومی جدایه‌ها طبق روش دلاپورتا و همکاران (Dellaporta et al., 1983) استخراج شد.

تعیین دو ال تیپ آمیزشی *Inv- MAT* و *Inv+ MAT* در همه جدایه‌ها و از طریق غربال‌گری PCR انجام گرفت. بدین منظور در هر جدایه به صورت جداگانه از آغازگرهای *MAT1-1-F* (-5'-ATACAGCCACTTACCTACCATACAGC-3') و *MAT1-1-R* (3'-TCTGAGTGGGAAGCAATGTGTTGTG-3') برای تکثیر ال *Inv- MAT* و از دو آغازگر Type-IIF (-5'-CCGTTTAAGGGAAATCCAGA-3') و Type-IIR (5'-ACGTGCATCCAAGAAGACGC-3') برای تکثیر ال *Inv+ MAT* استفاده شد (Chitrampalam et al., 2013). واکنش‌های PCR در حجم ۲۰ میکرولیتر حاوی حدود ۱۰ نانوگرم DNA، ۱۰ میکرولیتر Taq DNA Polymerase 2X Master mix Red (ساخت شرکت Ampliqon، دانمارک) و ۰/۲ میکرومولار از هر کدام از آغازگرها بود. چرخه حرارتی شامل واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه و ۳۵ چرخه بود که در هر چرخه ۳۰ ثانیه دمای ۹۵ درجه سلسیوس، ۳۰ ثانیه دمای ۶۰ درجه سلسیوس و ۶۵ ثانیه دمای ۷۲ درجه سلسیوس در نظر گرفته شد. در نهایت بسط نهایی به مدت پنج دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس انجام گرفت. محصولات PCR در ژل آگارز ۱ درصد و بافر TBE<sup>۲</sup> (۴۰ میلی‌مولار تریس بازی، ۵ میلی‌مولار

3- Potato dextrose agar

4- McCormick's red food coloring

1- Potato dextrose broth

2- Tris base- Boric acid- EDTA

تاریکی، قطر زخم در اطراف محل مایه‌زنی شده، اندازه‌گیری شد. در این مدت رطوبت طرف‌ها مورد بررسی قرار گرفت و در صورت نیاز، آب مقطر سترون افزوده شد تا شرایط رطوبتی مورد نیاز برای ایجاد آلودگی فراهم گردد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار (برگ) برای هر جدایه انجام شد و هر تکرار در ظرف مجزا قرار گرفت.

### تجزیه داده‌های قدرت تهاجم

داده‌های مربوط به قطر لکه روی برگ‌های آفتابگردان و کلم با تبدیل لگاریتمی نرمال شدند و سپس تجزیه واریانس<sup>۲</sup> داده‌ها با روش GLM<sup>۳</sup> انجام گرفت. همه تجزیه‌های واریانس به صورت آشیانه‌ای<sup>۴</sup> انجام شد و داده‌ها بر اساس قطر لکه جدایه‌های متعلق به مناطق، میزبان‌ها، ژنوتیپ‌های MAT و یا گروه‌های سازگار رویشی به صورت جداگانه تجزیه شدند. در تجزیه واریانس داده‌ها، جدایه‌های درون مناطق، میزبان‌ها، ژنوتیپ‌های MAT و یا گروه‌های سازگار رویشی به عنوان اثرات ثابت در نظر گرفته شدند و تکرار اثر تصادفی بود. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی<sup>۵</sup> در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. تجزیه‌ها در نرم‌افزار Minitab نسخه ۱۷ انجام شد.

### نتایج

#### ژنوتیپ‌های MAT

آغازگرهای اختصاصی تیپ آمیزشی MAT-Inv یک قطعه به اندازه حدود ۶۷۱ جفت باز و دو آغازگر اختصاصی MAT+Inv قطعه‌ای به اندازه حدود ۱۳۰۶ جفت باز را تکثیر کردند (شکل ۱). بر اساس الل‌های MAT، سه ژنوتیپ MAT-Inv، MAT+Inv و هتروکاریون در بین ۱۳۶ جدایه *S. sclerotiorum* شناسایی شدند که به ترتیب شامل ۷۴ (۵۴/۴۱ درصد)، ۲۲ (۱۶/۱۸ درصد) و ۴۰ (۲۹/۴۱ درصد) جدایه بودند (جدول‌های ۱ و ۲). هر سه ژنوتیپ با فراوانی‌های متفاوت در مزارع هر سه منطقه (جدول ۱) و هر دو میزبان (جدول ۲) ردیابی شدند. ژنوتیپ MAT-Inv در بین

به عنوان ناسازگاری دو جدایه در نظر گرفته شد (Kohn et al., 1990). در نهایت، تعداد MCG برای کل جدایه‌ها و هر کدام از جمعیت‌ها تعیین شد و برای مقایسه تنوع MCG، غنای MCG<sup>۱</sup> (نسبت MCG متفاوت) برای جمعیت‌ها محاسبه گردید (Magurran, 2004; Lehner et al., 2019).

### بررسی قدرت تهاجم جدایه‌ها

قدرت تهاجم ۸۰ جدایه *S. sclerotiorum* که در مطالعه قبلی (Faraghati et al., 2022) و با استفاده از نشانگرهای مولکولی به عنوان ژنوتیپ متفاوت شناخته شده بودند، روی برگ‌های بریده آفتابگردان و کلم مورد ارزیابی قرار گرفت (Sexton and Howlett, 2004; Lehner et al., 2016). برای این منظور، برگ‌های سالم با سن و موقعیت یکسان و نیز اندازه‌ی تقریباً مشابه، از گیاهان سالم یک مزرعه آفتابگردان و یک مزرعه کلم واقع در ارومیه تهیه شد. بعد از انتقال به آزمایشگاه، برگ‌ها ابتدا در زیر آب جاری شیر شسته شدند و پس از ضدعفونی سطحی با اتانول ۷۰ درصد و سه بار شست‌وشو با آب مقطر سترون، با استفاده از کاغذ صافی سترون آب‌گیری شدند. برای مایه‌زنی، ابتدا در قسمت روئی هر کدام از برگ‌های کلم و آفتابگردان به وسیله‌ی سوزن سترون یک زخم کوچک ایجاد شد و حلقه‌های ۵ میلی‌متری PDA حاوی میسلیم قارچ، از حاشیه‌ی پرگنه‌های فعال و در حال رشد کشت‌های سه روزه برداشته شد و طوری روی زخم موجود بر روی برگ‌ها قرار داده شد که سطح میسلیم‌دار حلقه با زخم در تماس باشد. برای جلوگیری از خشک شدن برگ یک تکه پنبه سترون آغشته به آب مقطر سترون در انتهای دمبرگ برگ قرار گرفت. هر برگ با یک جدایه مایه‌زنی شد و در تیمار شاهد، حلقه محیط کشت سترون (فاقد قارچ) روی زخم قرار گرفت. برگ‌های مایه‌زنی شده روی لایه‌ای از دستمال کاغذی مرطوب سترون در داخل ظرف‌های پلاستیکی درب‌دار انتقال یافتند و پس از پنج روز نگهداری در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شرایط

4- Nested ANOVA

5- Tukey

1- MCG richness

2- Analysis of variance

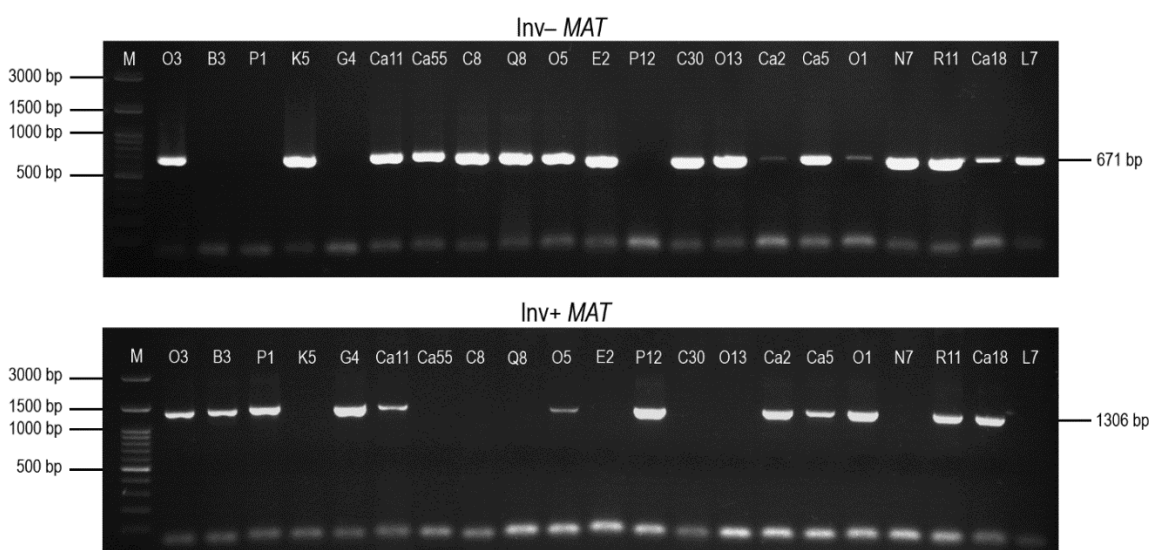
3- General linear model

آنها مشاهده شد و همه جدایه‌ها با خودشان سازگاری نشان دادند. در مجموع، ۱۷ گروه سازگار میسلومی (MCG1 تا MCG17) در بین ۱۳۶ جدایه شناسایی گردید (شکل ۲). یازده گروه دارای بیش از یک جدایه بودند که در بین آنها MCG1، MCG2 و MCG3 به ترتیب با ۳۳، ۱۷ و ۱۵ جدایه، بیشترین تعداد جدایه را داشتند. در شش گروه (MCG12 تا MCG17) تنها یک جدایه وجود داشت (شکل ۲).

جدایه‌های تمام مناطق جغرافیایی و میزبان آفتابگردان، فراوان‌ترین ژنوتیپ بود، در حالی که ژنوتیپ هتروکاریون در بین جدایه‌های کلم بیشترین فراوانی را داشت (جدول‌های ۱ و ۲).

### تنوع و پراکنش گروه‌های سازگار میسلومی

با بررسی گروه‌های سازگار میسلومی جدایه‌های *S. sclerotiorum* روی محیط کشت، دو نوع برهمکنش سازگاری و ناسازگاری بین جدایه‌ها در محل تماس ریشه‌های



شکل ۱- قطعات DNA مربوط به ال‌های دو تیپ آمیزشی *Inv- MAT* و یا *Inv+ MAT* در تعدادی از جدایه‌های *Sclerotinia sclerotiorum* که با آغازگرهای اختصاصی تکثیر شده‌اند. جدایه‌هایی که در آنها قطعات DNA مربوط به هر دو تیپ آمیزشی تکثیر یافته است، هتروکاریون هستند. کد هر جدایه در بالای ستون و طول قطعات تکثیر یافته، در سمت راست ژل‌ها نوشته شده است. ستون M: نشانگر ExcelBand™ 100 bp+3K DNA Ladder (SMOBIO, Taiwan). تایوان).

Figure 1. DNA fragments from *Sclerotinia sclerotiorum* isolates of differing mating types, *Inv- MAT* or *Inv+ MAT*, amplified using specific primers. Isolates exhibiting DNA fragments from both mating types are heterokaryon. Each isolate is labeled at the top of the lane, and the fragment sizes are indicated on the right side of the gels. Lane M: ExcelBand™ 100 bp+3K DNA ladder (SMOBIO, Taiwan).

جدول ۱- پراکنش و فراوانی ژنوتیپ‌های *MAT* در جمعیت‌های *Sclerotinia sclerotiorum* جمع‌آوری شده از مناطق مختلف.

Table 1. Distribution and frequency of *MAT* genotypes within *Sclerotinia sclerotiorum* populations collected from various regions.

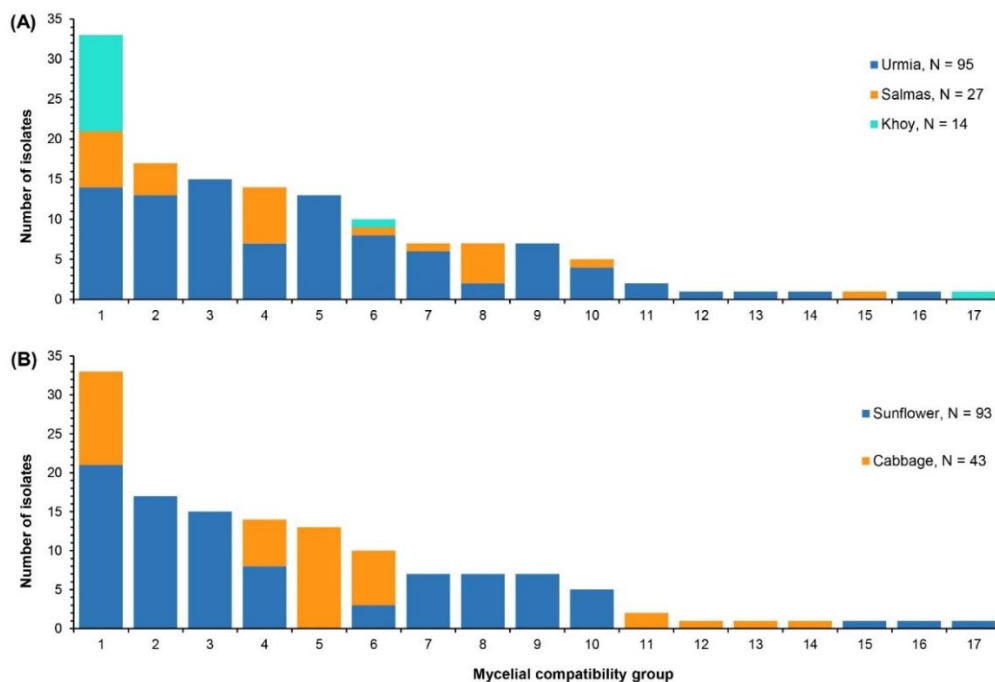
Region	No. isolates	<i>MAT</i> genotype		
		<i>Inv- MAT</i>	<i>Inv+ MAT</i>	Heterokaryon
Urmia	95	46 (48.42%)	15 (15.79%)	34 (35.79%)
Salmas	27	18 (66.67%)	4 (14.81%)	5 (18.52%)
Khoy	14	10 (71.43%)	3 (21.43%)	1 (7.14%)
Total	136	74 (54.41%)	22 (16.18%)	40 (29.41%)



جدول ۲- پراکنش و فراوانی ژنوتیپ‌های MAT در جمعیت‌های *Sclerotinia sclerotiorum* جمع آوری شده از دو میزبان.

Table 2. Distribution and frequency of MAT genotypes within *Sclerotinia sclerotiorum* populations collected from two host plants.

Host	No. isolates	MAT genotype		
		Inv- MAT	Inv+ MAT	Heterokaryon
Sunflower	93	58 (62.37%)	18 (19.35%)	17 (18.28%)
Cabbage	43	16 (37.21%)	4 (9.30%)	23 (53.49%)
Total	136	74 (54.41%)	22 (16.18%)	40 (29.41%)



شکل ۲- پراکنش و فراوانی گروه‌های سازگار رویشی (MCGs) در جمعیت‌های *Sclerotinia sclerotiorum* جمع آوری شده از مناطق (A) و میزبان‌های (B) مختلف.

Figure 2. Distribution and frequency of vegetative compatible groups (MCGs) in *Sclerotinia sclerotiorum* populations collected from different regions (A) and hosts (B).

غناي MCG برای کل ۱۳۶ جدایه، ۱۲/۵ درصد محاسبه شد و مقدار این شاخص در جمعیت‌های جمع‌آوری شده از مناطق جغرافیایی (جدول ۳) و میزبان‌ها (جدول ۴)، متفاوت بود. در بین جمعیت‌های مناطق مورد بررسی، جدایه‌های سلماس از تنوع بیشتری در مقایسه با دو جمعیت دیگر برخوردار بودند و غناي MCG در این جمعیت ۲۹/۶ درصد برآورد شد (جدول ۳). مقایسه جمعیت‌های بدست آمده از دو میزبان نیز نشان داد که جدایه‌های مزارع کلم غناي MCG (۱۸/۶ درصد) بیشتری

نتایج بررسی‌ها نشان داد که پراکنش گروه‌های سازگاری میسلیمی در مناطق و میزبان‌های مختلف متفاوت بود (شکل ۲). در بین گروه‌های شناسایی شده، MCG1 و MCG6 در هر سه منطقه مورد بررسی و هر دو میزبان پراکنده بودند و MCG4 در ارومیه و سلماس، و روی هر دو میزبان وجود داشت. سایر گروه‌ها که دارای بیش از یک جدایه بودند، در یک یا دو منطقه و فقط روی یک میزبان شناسایی شدند (شکل ۲).

را در مقایسه با جدایه‌های آفتابگردان (۱۲/۹ درصد) داشتند (جدول ۴).

### قدرت تهاجمی جدایه‌ها روی آفتابگردان

همه جدایه‌های مورد بررسی، قادر به ایجاد آلودگی در برگ‌های بریده آفتابگردان بودند، اما اختلاف معنی‌داری در میانگین قطر لکه در سطح احتمال ۱ درصد داشتند. میانگین قطر لکه جدایه‌ها روی برگ‌های بریده آفتابگردان از ۱/۴۰ تا ۷/۰۸ سانتی‌متر متفاوت بود و بر همین اساس، در گروه‌های مختلف آماری قرار گرفتند (شکل ۳). دو جدایه P8 و N6 که از آفتابگردان در سلماس جداسازی شده بودند، به ترتیب با قطر لکه ۶/۵۸ و ۷/۰۸ سانتی‌متر دارای بیشترین قدرت تهاجمی روی آفتابگردان بودند و قطر لکه آنها اختلاف معنی‌داری با سایر جدایه‌ها داشت. بقیه ۷۸ جدایه با اینکه در گروه‌های آماری مختلف قرار گرفتند ولی اغلب این گروه‌ها با همدیگر همپوشانی داشتند و اختلاف معنی‌داری بین آنها وجود نداشت (شکل ۳).

نتایج تجزیه‌های آماری نشان داد که میانگین قطر لکه جدایه‌های بدست آمده از دو میزبان و نیز جدایه‌های متعلق به مناطق،

ژنوتیپ‌های MAT و گروه‌های سازگار رویشی، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد داشتند. مقایسه میانگین‌ها مشخص نمود که میانگین قطر لکه جدایه‌های بدست آمده از کلم به طور معنی‌داری بیشتر از جدایه‌های آفتابگردان بود و جدایه‌های جمع‌آوری شده از سلماس دارای قدرت تهاجم بیشتری بودند و میانگین قطر لکه ایجاد شده توسط آنها، اختلاف معنی‌داری با جدایه‌های دو جمعیت جغرافیایی ارومیه و خوی داشت (شکل ۴). جدایه‌هایی با ژنوتیپ هتروکاریون نیز قدرت تهاجم بیشتری نشان دادند و میانگین قطر جدایه‌هایی با ژنوتیپ‌های MAT-Inv و MAT+Inv اختلاف معنی‌دایر با همدیگر نداشتند. همچنین مقایسه میانگین گروه‌های سازگار رویشی با حداقل پنج جدایه (MCG1-MCG10) نشان داد که MCG9 و MCG7 که به ترتیب بیشترین قطر لکه را روی برگ‌های آفتابگردان ایجاد کرده بودند، در یک گروه آماری قرار گرفتند و اختلاف معنی‌داری با سایر گروه‌ها داشتند. جدایه‌های متعلق به MCG3 و MCG8 دارای کمترین قدرت تهاجم بودند (شکل ۴).

جدول ۳- فراوانی و غنای گروه‌های سازگار رویشی (MCGs) در جمعیت‌های *Sclerotinia sclerotiorum* جمع‌آوری شده از مناطق مختلف.

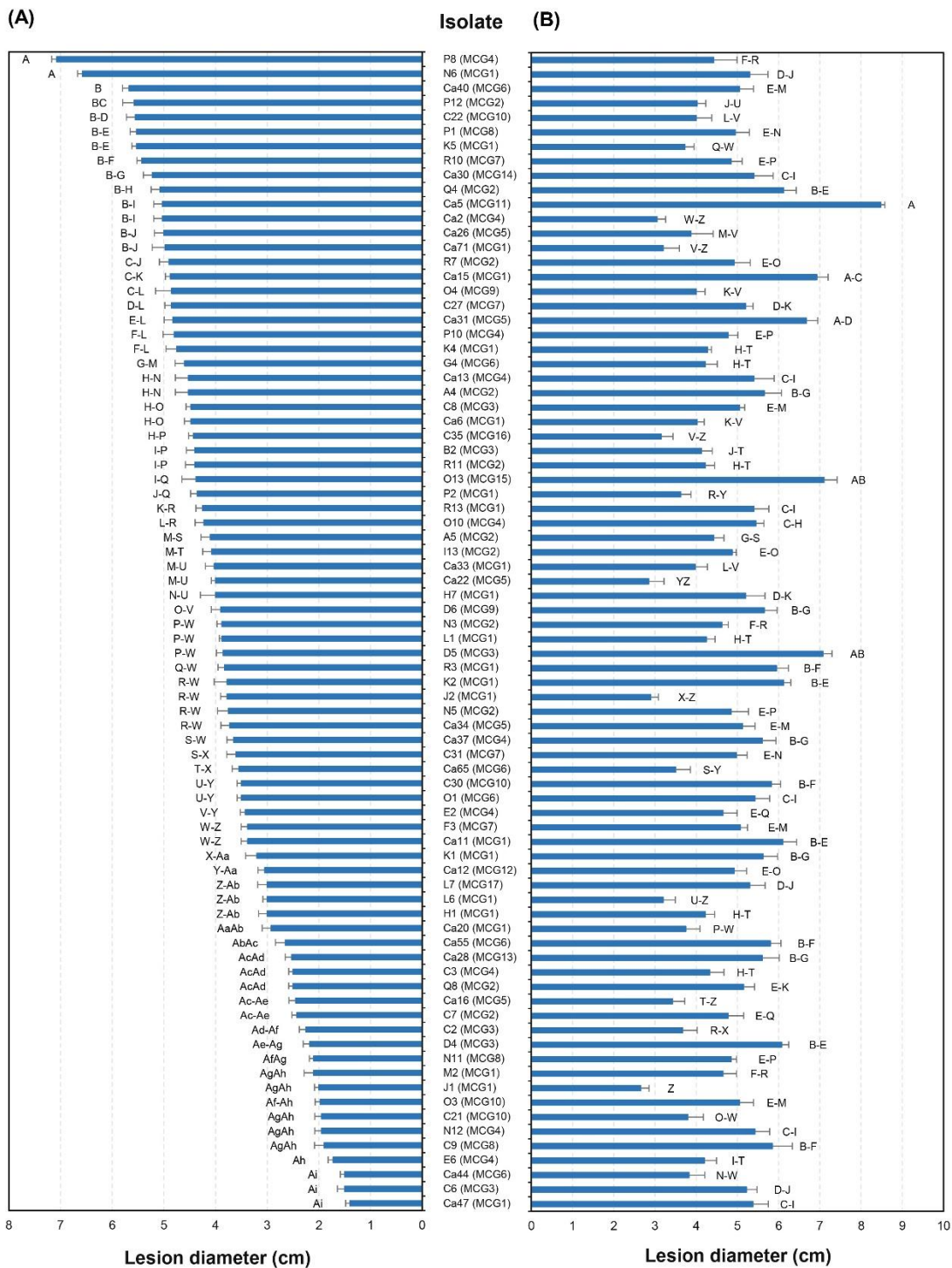
Table 3. Frequency and richness of vegetative compatible groups (MCGs) within *Sclerotinia sclerotiorum* populations collected from different regions.

Region	No. isolates	No. MCGs	Richness (%)
Urmia	95	3	21.4
Salmas	27	8	29.6
Khoy	14	15	15.8
Total	136	17	12.5

جدول ۴- فراوانی و غنای گروه‌های سازگار رویشی (MCGs) در جمعیت‌های *Sclerotinia sclerotiorum* جمع‌آوری شده از دو میزبان.

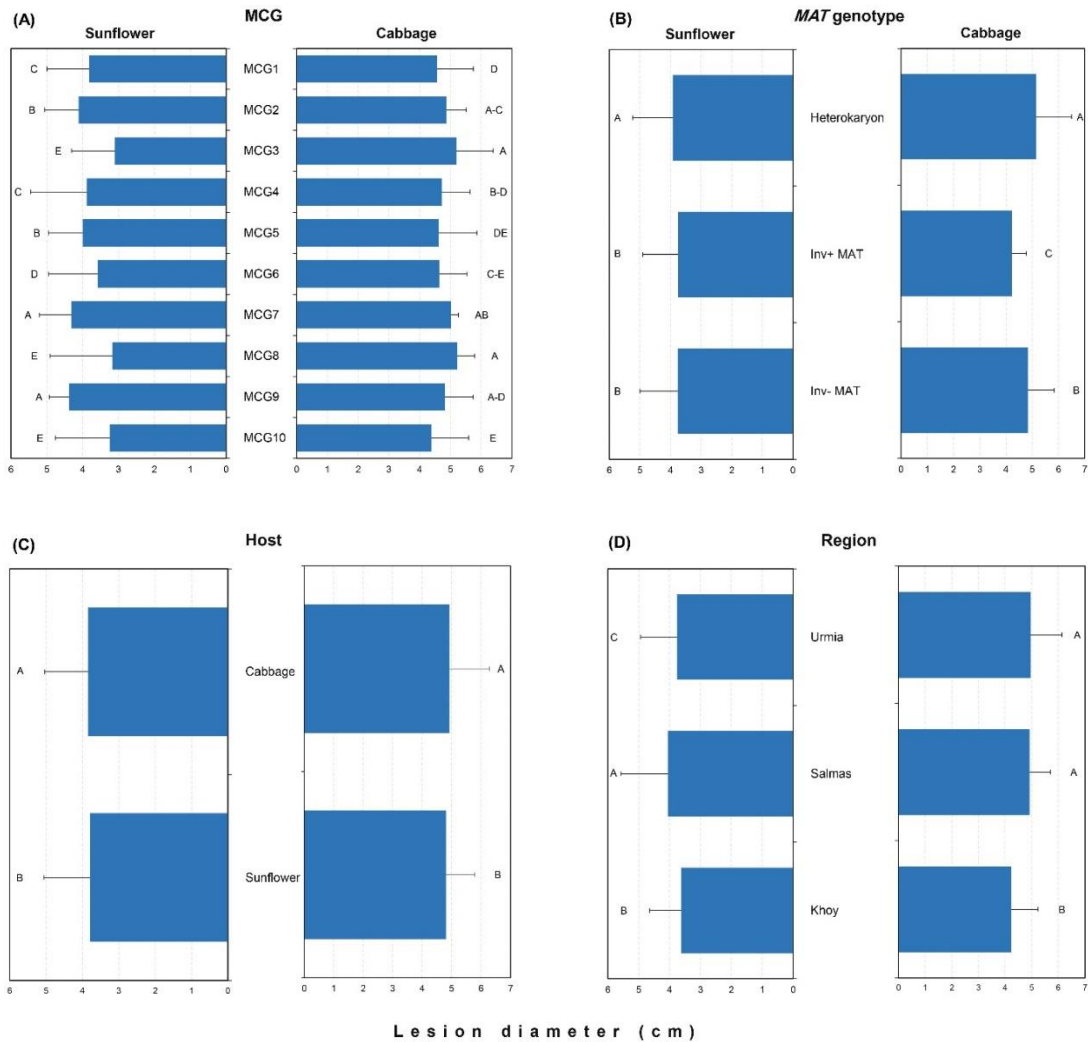
Table 4. Frequency and richness of vegetative compatible groups (MCGs) within *Sclerotinia sclerotiorum* populations collected from two host plants.

Host	No. isolates	No. MCGs	Richness (%)
Sunflower	93	12	12.9
Cabbage	43	8	18.6
Total	136	17	12.5



شکل ۳- میانگین قطر لکه جدایه‌های *Sclerotinia sclerotiorum* روی برگ‌های بریده آفتابگردان (A) و کلم (B) پنج روز پس از مایه‌زنی. انحراف معیارها به صورت خطوط افقی در هر ستون، و گروه سازگار رویشی (MCG) هر جدایه داخل پرانتز نشان داده شده‌اند. در هر نمودار، میانگین‌هایی با حروف مشابه، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد با همدیگر نداشتند.

Figure 3. Mean lesion diameter of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates on detached leaves of sunflower (A) and cabbage (B) five days post-inoculation. Standard deviations are represented by horizontal lines in each column, and the vegetative compatibility group (MCG) of each isolate is denoted in parentheses. In each charts, means sharing the same letters do not significantly differ at the five percent probability level.



شکل ۴- میانگین قطر لکه جدایه‌های *Sclerotinia sclerotiorum* در گروه‌های سازگار رویشی (MCGs، A)، ژنوتیپ‌های MAT (B)، میزبان‌ها (C) و مناطق مختلف (D) روی برگ‌های بریده آفتابگردان و کلم، پنج روز پس از مایه‌زنی. انحراف معیارها به صورت خطوط افقی در هر ستون نشان داده شده است. در هر نمودار، میانگین‌هایی با حروف مشابه، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد با همدیگر نداشتند.

Figure 4. Mean lesion diameter of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates within vegetative compatible groups (MCGs, A), MAT genotypes (B), host plants (C), and sampling regions (D) on detached leaves of sunflower and cabbage, five days post-inoculation. Standard deviations are shown as horizontal lines in each bar. Means sharing the same letters do not significantly differ at the five percent probability level within each graph.

گرفتند (شکل ۳). جدایه Ca5 که از روی کلم در ارومیه جداسازی شده بود، به عنوان مهاجم‌ترین جدایه روی کلم شناسایی گردید. با این حال، این جدایه با Ca15، D5، O13 و Ca31 که از لحاظ قطر لکه به ترتیب در رده‌های دوم تا پنجم قرار گرفتند، اختلاف معنی‌داری نداشت. سایر جدایه‌ها نیز در گروه‌های آماری مختلف قرار گرفتند ولی اغلب این گروه‌ها با

### قدرت تهاجمی جدایه‌ها روی کلم

همه جدایه‌های مورد بررسی، قادر به ایجاد آلودگی در برگ‌های بریده کلم بودند، اما اختلاف معنی‌داری در میانگین قطر لکه در سطح احتمال ۱ درصد داشتند. میانگین قطر لکه جدایه‌ها روی برگ‌های بریده کلم از ۲/۶۵ تا ۸/۴۸ سانتی‌متر متفاوت بود و بر همین اساس، در گروه‌های مختلف آماری قرار

*sclerotiorum* گزارش کردند. تحقیقات آنها نشان داد که فرآیند وارونگی *MAT* در طی تولیدمثل جنسی این قارچ رخ می‌دهد و بعد از آن نیز هیچ اثر منفی بر تولیدمثل جنسی ندارد. در تحقیق حاضر نیز برای اولین بار در کشور، وارونگی *MAT* در برخی جدایه‌ها شناسایی گردید که بیانگر وقوع تولیدمثل جنسی در جمعیت‌های *S. sclerotiorum* در مورد بررسی است. این یافته، تایید کننده نتایج مطالعه قبلی (Faraghati et al., 2022) است که وقوع تولیدمثل جنسی در جمعیت‌های این قارچ در استان را بر اساس داده‌های نشانگرهای مولکولی نشان داده بود. بررسی ۱۴۶ جدایه *S. sclerotiorum* جمع‌آوری شده از ۱۶ میزبان در ۲۱ ایالت آمریکا بیانگر فراوانی بیشتر (۵۵/۵ درصد) ژنوتیپ هتروکاریون و پراکندگی آن در ۱۸ ایالت و روی ۱۱ میزبان بود و جدایه‌هایی با ژنوتیپ *Inv+ MAT* کمترین فراوانی (۱۲/۸ درصد) را داشتند (Chitrampalam et al., 2015). در بین جدایه‌های آذربایجان غربی، فراوانی جدایه‌های هتروکاریون کمتر (۲۹/۴۱ درصد) بود، در حالی که بیش از نیمی (۵۴/۴۱ درصد) از جدایه‌ها به عنوان *Inv- MAT* شناسایی شدند و *Inv+ MAT* (۱۶/۱۸ درصد) کمترین فراوانی را داشت. در اغلب جمعیت‌ها، ترتیب فراوانی ژنوتیپ‌های *MAT* مشابه کل جمعیت بود بجز جمعیت خوی که فراوانی هتروکاریون (۱/۱۴ درصد) کمتر از *Inv+ MAT* (۲۱/۴۳ درصد) بود و در جمعیت قارچی بدست آمده از کلم، ژنوتیپ هتروکاریون با فراوانی (۵۳/۴۹ درصد) بیشتری شناسایی گردید.

گونه *S. sclerotiorum* به عنوان یک قارچ هموتال شناخته می‌شود که قادر است تولیدمثل جنسی را از طریق خودلقاحی انجام دهد. بر همین اساس، انتظار می‌رود که جمعیت‌های این بیمارگر از لحاظ ژنتیکی همسان<sup>۱</sup> باشند و تنوع ژنتیکی کمی در آنها دیده شود (Attanayake et al., 2019). با این حال، مطالعه ساختار ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای مولکولی بیانگر تنوع ژنتیکی بالا و وقوع دگرلقاحی در برخی جمعیت‌های این

همدیگر همپوشانی داشتند و اختلاف معنی‌داری بین آنها وجود نداشت (شکل ۳). نتایج تجزیه‌های آماری نشان داد که میانگین قطر لکه جدایه‌های بدست آمده از دو میزبان و نیز جدایه‌های متعلق به مناطق، ژنوتیپ‌های *MAT* و گروه‌های سازگار رویشی، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشتند. مقایسه میانگین‌ها مشخص نمود که میانگین قطر لکه‌های جدایه‌های جدا شده از کلم به طور معنی‌داری بیشتر بود و جدایه‌های جمع‌آوری شده از ارومیه و سلماس که قدرت تهاجم بیشتری داشتند و در یک گروه آماری قرار گرفتند، اختلاف معنی‌داری با جدایه‌های جمعیت قارچی خوی داشتند (شکل ۴). جدایه‌هایی با ژنوتیپ هتروکاریون نیز قدرت تهاجم بیشتری را در مقایسه با دو ژنوتیپ *Inv- MAT* و *Inv+ MAT* از خود نشان دادند. همچنین مقایسه میانگین گروه‌های سازگار رویشی با حداقل پنج جدایه (MCG1-MCG10)، نشان داد که جدایه‌های متعلق به MCG3 و MCG8 به ترتیب بیشترین قطر لکه را روی برگ‌های کلم ایجاد کرده بودند، اما با جدایه‌های MCG2، MCG7 و MCG9 که از لحاظ قطر لکه به ترتیب در رده‌های سوم تا پنجم قرار گرفتند، اختلاف معنی‌داری نداشتند (شکل ۴).

### بحث

در این تحقیق جدایه‌های *S. sclerotiorum* بدست آمده از مزارع آفتابگردان و کلم در مناطق مختلف آذربایجان غربی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بیانگر پراکنش گسترده سه ژنوتیپ *MAT* در جمعیت‌های قارچ بود و شناسایی جدایه‌های دارای وارونگی در مکان *MAT*، وقوع تولیدمثل جنسی قارچ در منطقه را نشان داد. جدایه‌های بیمارگر از لحاظ قدرت تهاجم متنوع بودند ولی تنوع *MCG* کمی در جمعیت‌های بیمارگر در استان مشاهده شد.

چیتراپالام و همکاران (Chitrampalam et al., 2013) برای اولین بار وارونگی مکان *MAT* (*Inv+ MAT*) را در *S.*

قارچ در ایران ( Hemmati et al., 2009; Faraghati et al., 2022) و سایر نقاط جهان ( al., 2013; Aldrich-Wolfe et al., 2015; Abán et al., 2018) است. با اینکه سازوکار دگرلقاحی در *S. sclerotiorum* هنوز به طور دقیق مشخص نشده است، ولی وجود ژنوتیپ هتروکاریون *MAT* تایید کننده وقوع این پدیده در قارچ است که احتمالاً از طریق ادغام ریشه‌های سازگار (MCG مشابه) دو جدایه با ژنوتیپ متفاوت ایجاد می‌شود ( Chitrampalam et al., 2015). ایجاد هتروکاریون<sup>۱</sup> در بعضی گونه‌ها مانند *S. homoeocarpa* به عنوان روشی برای افزایش تنوع و در نتیجه افزایش توانایی سازگاری قارچ به روش‌های کنترل از جمله مقاومت چندگانه به قارچ‌کش‌ها شناخته شده است ( Kessler et al., 2018). با اینکه اثر ایجاد هتروکاریون در *S. sclerotiorum* بررسی نشده است، ولی با توجه به اثر این پدیده در سایر بیمارگرها، چیتراپالام و همکاران (Chitrampalam et al., 2015) این احتمال را مطرح کردند که ممکن است ژنوتیپ‌های هتروکاریون این قارچ نیز توانایی سازگاری بیشتری در مقایسه با ژنوتیپ‌های هموکاریون داشته باشند و بخشی از مشکلات مدیریت بیماری‌های ناشی از *S. sclerotiorum* می‌تواند به دلیل سهولت تشکیل هتروکاریون-ها، افزایش تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های قارچ و غلبه بر روش‌های کنترل مانند ارقام مقاوم و قارچ‌کش‌ها باشد. در تحقیق حاضر، قدرت مهاجم سه ژنوتیپ *MAT* برای اولین بار مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که هتروکاریون‌ها به طور معنی‌داری مهاجم‌تر از ژنوتیپ‌های هموکاریون بودند. این یافته می‌تواند تاییدی بر فرضیه مطرح شده توسط چیتراپالام و همکاران (Chitrampalam et al., 2015) باشد زیرا قدرت مهاجم یکی از فاکتورهای تعیین‌کننده کارایی و پایداری مقاومت در ارقام مقاوم به *S. sclerotiorum* است که با افزایش میزان و تنوع آن، کارایی ارقام مقاوم در مزرعه تحت تاثیر قرار می‌گیرد ( Garg et al., 2010; Lehner et al., 2017, 2019).

بنابراین، با توجه به تنوع ژنتیکی بالا و احتمال وقوع تولیدمثل جنسی گزارش شده در مطالعه قبل (Faraghati et al., 2022) و اثبات وجود ژنوتیپ هتروکاریون در تحقیق حاضر، به نظر می‌رسد که جمعیت‌های این قارچ در آذربایجان غربی پتانسیل تکاملی بالایی دارند که می‌توانند نسبت به ارقام مقاوم و قارچ‌کش‌ها سازگار شوند و کارایی آنها در کنترل بیماری در مزرعه را کاهش دهند. در جمعیت‌هایی از *S. sclerotiorum* که اغلب به صورت غیرجنسی تولیدمثل می‌کنند و دگرلقاحی در آنها به ندرت اتفاق می‌افتد، مشاهده تنوع کم در MCG نیز دور از انتظار نیست. به عنوان مثال، در جمعیت‌های همسان این قارچ غنای MCG از ۹/۸ درصد در کانادا (Hambleton et al., 2002) و حدود ۱۲-۱۰ درصد در برزیل ( Lehner et al., 2017, 2019)، تا ۲۵/۶۱ درصد در ایالت نیویورک آمریکا ( Lehner et al., 2017) گزارش شده است. اما مطالعاتی که در آنها شواهدی از وقوع دگرلقاحی در جمعیت‌های بیمارگر را با استفاده از نشانگرهای مولکولی نشان داده‌اند، غنای MCG بیشتری را از ۴۴/۸۳ درصد در آرژانتین (Abán et al., 2018) تا ۹۰ درصد در ایالت داکوتای شمالی در آمریکا (Attanayake et al., 2013) گزارش کرده‌اند. در تحقیق حاضر، تعداد ۱۷ MCG در بین ۱۳۶ جدایه *S. sclerotiorum* شناسایی شد و غنای MCG هم ۱۲/۵ درصد برآورد گردید. همچنین، در نمونه‌های جمع‌آوری شده از آفتابگردان و کلم، غنای MCG به ترتیب ۱۲/۹ و ۱۸/۶ درصد بود که تقریباً مشابه غنای گزارش شده از آفتابگردان (۱۳/۵ درصد، Irani et al., 2011) و کلم (۱۶/۱ درصد، Yousefdoost & Ghosta, 2015) در استان آذربایجان غربی، ولی خیلی کمتر از غنای MCG (۶۱/۴۰ درصد) در استان گلستان ( Karimi et al., 2012) است. بنابراین، در کل غنای MCG در استان با مقادیر بدست آمده از جمعیت‌های همسان قارچ در سایر کشورها (Hambleton et al., 2002; Lehner et al., 2017, 2019)

Attanayake et al., 2013; Willbur et al., 2017; Poudel et al., 2023) مطابقت داشت، با اینکه در مواردی عدم اختلاف معنی‌دار در قدرت تهاجم جدایه‌های *S. sclerotiorum* نیز گزارش شده است (Atallah et al., 2004; Sexton and Howlett, 2004; Lehner et al., 2016). برخلاف تنوع و تفاوت معنی‌دار در قدرت تهاجم جدایه‌ها، مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که اغلب جدایه‌ها اختلاف معنی‌داری با همدیگر نداشتند و فقط مهاجم‌ترین جدایه‌ها از لحاظ آماری در گروه آماری متفاوت قرار گرفتند. چنین حالتی قبلاً نیز با بررسی قدرت تهاجم جدایه‌های *S. sclerotiorum* روی گیاهان مختلفی مانند آفتابگردان (Marciano et al., 1983; Ekins et al., 2007; Morrall et al., 1972; Garg et al., 2010) و قاصدک (Riddle et al., 1991) مشاهده شده است و آن را پیوستگی<sup>۱</sup> قدرت تهاجم توصیف کرده‌اند (Morrall et al., 1972; Ekins et al., 2007) که اغلب جدایه‌ها در مقایسه میانگین‌ها با همدیگر هم‌پوشانی دارند و اختلاف معنی‌دار معمولاً بین جدایه‌هایی با بیشترین و کمترین قدرت تهاجم مشاهده می‌شود.

یکی از یافته‌های مهم این تحقیق، اثبات وجود اختلاف معنی‌دار در قدرت تهاجم جمعیت‌های *S. sclerotiorum* بدست آمده از میزبان‌ها و مناطق جغرافیایی، و نیز بین جدایه‌های متعلق به MCGها بود. در مواردی تفاوت معنی‌دار در قدرت تهاجم جمعیت‌های این بیمارگر در مناطق مختلف گزارش شده است (Kull et al., 2004; Otto-Hanson et al., 2011) و بررسی‌های دورمان و همکاران (Durman et al., 2003) نیز نشان داد که جدایه‌های بدست آمده از آفتابگردان، قدرت تهاجم بیشتری را در مقایسه با جدایه‌های سویا دارند. قدرت تهاجم MCGهای مختلف این قارچ نیز در بعضی کشورها مورد بررسی قرار گرفته است که در مواردی اختلاف معنی‌داری بین جدایه‌های متعلق به MCGها مشاهده شده است (Kull et al., 2004; Irani et al., 2011; Otto-Hanson et al., 2011; Attanayake et al., 2013) در حالیکه در

مطابقت دارد. با این حال، توجه به این نکته ضروری است که نتیجه‌گیری کلی در مورد همسانی جمعیت فقط بر اساس تنوع MCG، ممکن است گمراه‌کننده باشد، زیرا تنوع کم MCG می‌تواند به دلیل محدودیت در تعداد الل‌های چندشکل در جایگاه‌های ژنی دخیل در سازگاری رویشی در آن جمعیت نیز باشد. بنابراین، برای نتیجه‌گیری دقیق‌تر، بایستی مجموعه‌ای از ویژگی‌ها با استفاده از روش‌ها و ابزارهای مختلف از جمله نشانگرهای مولکولی مورد بررسی قرار گیرد (Lehner et al., 2019). برخلاف تنوع کمی که در MCG قارچ در این تحقیق مشاهده شد، بررسی ساختار ژنتیکی *S. sclerotiorum* با استفاده از نشانگرهای مولکولی، تنوع ژنوتیپی بالا و احتمال وقوع دگرلقاحی را در جمعیت‌های این بیمارگر در استان آذربایجان غربی نشان داده است (Faraghati et al., 2022). بنابراین، وجود جدایه‌های متعدد در برخی MCGها و نیز شناسایی جدایه‌های همسان با استفاده از نشانگرهای مولکولی در مطالعه قبلی (Faraghati et al., 2022)، بیانگر وقوع تولیدمثل غیرجنسی قارچ در مزارع آذربایجان غربی است. با این حال، اثبات وارونگی MAT در برخی جدایه‌ها در این تحقیق، به همراه یافته‌های حاصل از بررسی جدایه‌های قارچ با استفاده از نشانگرهای مولکولی (Faraghati et al., 2022) نشان می‌دهند که تولیدمثل جنسی و دگرلقاحی نیز در جمعیت‌های بیمارگر در استان رخ می‌دهد. اما به نظر می‌رسد، تنوع کم MCG در داخل جمعیت‌های قارچ در استان به دلیل محدودیت تعداد الل‌ها در جایگاه‌های ژنی دخیل در سازگاری رویشی باشد.

بررسی قدرت تهاجم ۸۰ جدایه *S. sclerotiorum* بیانگر اختلاف معنی‌دار در بین جدایه‌های آذربایجان غربی در این صفت بود که این یافته با نتایج مطالعات قبلی در ایران (Irani et al., 2011; Karimi et al., 2012; Mousa Khalifani et al., 2018) و سایر کشورها (Riddle et al., 1991; Ekins et al., 2007; Garg et al., 2010; Otto-Hanson et al., 2011;

ژنوتیپ هتروکاریون و وارونگی در مکان *MAT* (Inv+) همراه با تنوع قدرت تهاجمی در جمعیت‌ها، بیانگر پتانسیل تکاملی و سازگاری بالای قارچ است که می‌تواند کارایی قارچ‌کش‌ها و به‌خصوص ارقام مقاوم در کنترل این بیمارگر در استان را تحت تاثیر قرار دهد. برای افزایش کارایی ارقام مقاوم، غربالگری ارقام بایستی با استفاده از چندین جدایه متعلق به MCGها، مناطق و میزبان‌های مختلف انجام گیرد تا با انتخاب و تولید ارقامی که در برابر طیف وسیعی از جدایه‌های قارچی با قدرت تهاجم متنوع مقاومت نشان می‌دهند، کارایی و پایداری مقاومت آنها در مزرعه را افزایش داد.

برخی مناطق قدرت تهاجم مشابهی داشته‌اند (Atallah et al., 2004; Sexton and Hewlett, 2004; Lehner et al., 2016). بنابراین، به نظر می‌رسد که تنوع قدرت تهاجم در درون و بین جمعیت‌های *S. sclerotiorum* در همه کشورها و مناطق یکسان نیست و بسته به منطقه و میزبان، تنوع جدایه‌ها و جمعیت‌ها متفاوت و نیازمند بررسی دقیق است. در کل، یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که تنوع MCG در جمعیت‌های *S. sclerotiorum* در استان آذربایجان غربی کم است که می‌تواند به دلیل محدودیت تعداد الل‌ها در جایگاه‌های ژنی دخیل در سازگاری رویشی باشد. با این حال، وجود

## REFERENCES

- Abán, C. L., Taboada, G., Spedaletti, Y., Aparicio, M., Curti, R. N., Casalderrey, N. B., Maggio, M. E., Chocobar, M. O., Salgado, M., & Galván, M. Z. (2018). Molecular, morphological and pathogenic diversity of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates from common bean (*Phaseolus vulgaris*) fields in Argentina. *Plant Pathology*, 67(8), 1740–1748.
- Aldrich-Wolfe, L., Travers, S., & Nelson Jr, B. D. (2015). Genetic variation of *Sclerotinia sclerotiorum* from multiple crops in the North Central United States. *PLoS One*, 10(9), e0139188.
- Amselem, J., Cuomo, C. A., van Kan, J. A., Viaud, M., Benito, E. P., Couloux, A., ... & Dickman, M. (2011). Genomic analysis of the necrotrophic fungal pathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea*. *PLoS genetics*, 7(8), e1002230.
- Atallah, Z. K., Larget, B., Chen, X., & Johnson, D. A. (2004). High genetic diversity, phenotypic uniformity, and evidence of outcrossing in *Sclerotinia sclerotiorum* in the Columbia Basin of Washington State. *Phytopathology*, 94(7), 737–742.
- Attanayake, R. N., Carter, P. A., Jiang, D., del Río-Mendoza, L., & Chen, W. (2013). *Sclerotinia sclerotiorum* populations infecting canola from China and the United States are genetically and phenotypically distinct. *Phytopathology*, 103(7), 750–761.
- Barari, H., Alavi, V., Yasari, E., & Badalyan, S. M. (2011). Study of genetic variations based on the morphological characteristics, within the population of *Sclerotinia sclerotiorum* from the major oilseed planting areas in Iran. *International Journal of Biology*, 3(2), 61–66.
- Bolton, M. D., Thomma, B. P., & Nelson, B. D. (2006). *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. *Molecular Plant Pathology*, 7(1), 1–16.
- Chitrampalam, P., Inderbitzin, P., Maruthachalam, K., Wu, B. M., & Subbarao, K. V. (2013). The *Sclerotinia sclerotiorum* mating type locus (MAT) contains a 3.6-kb region that is inverted in every meiotic generation. *PloS One*, 8(2), e56895.



- Chitrampalam, P., Qiu, C., Aldrich-Wolfe, L., Leng, Y., Zhong, S., & Nelson Jr, B. (2015). Prevalence of inversion positive and inversion negative mating type (*MAT*) alleles and *MAT* heterokaryons in *Sclerotinia sclerotiorum* in the United States. *Botany*, 93(8), 497–505.
- Davar, R., Darvishzadeh, R., Majd, A., Ghosta, Y., & Sarrafi, A. (2010). QTL mapping of partial resistance to basal stem rot in sunflower using recombinant inbred lines. *Phytopathologia Mediterranea*, 49(3), 330–341.
- Dellaporta, S. L., Wood, J., & Hicks, J. B. (1983). A plant DNA miniprep: version II. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1(1), 19–21.
- Derbyshire, M. C., Newman, T. E., Khentry, Y., & Owolabi Taiwo, A. (2022). The evolutionary and molecular features of the broad-host-range plant pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*. *Molecular Plant Pathology*, 23(8), 1075–1090.
- Durman, S. B., Menéndez, A. B., & Godeas, A. M. (2003). Mycelial compatibility groups in Buenos Aires field populations of *Sclerotinia sclerotiorum* (Sclerotiniaceae). *Australian Journal of Botany*, 51(4), 421–427.
- Ekins, M. G., Aitken, E. A. B., & Goulter, K. C. (2007). Aggressiveness among isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* from sunflower. *Australasian Plant Pathology*, 36(6), 580–586.
- Ershad, D. (2009). *Fungi of Iran*. Iranian Research Institute of Plant Protection.
- Faraghati, M., Abrinbana, M., & Ghosta, Y. (2022). Genetic structure of *Sclerotinia sclerotiorum* populations from sunflower and cabbage in West Azarbaijan province of Iran. *Scientific Reports*, 12(1), 9263.
- Garg, H., Kohn, L. M., Andrew, M., Li, H., Sivasithamparam, K., & Barbetti, M. J. (2010). Pathogenicity of morphologically different isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* with *Brassica napus* and *B. juncea* genotypes. *European Journal of Plant Pathology*, 126(3), 305–315.
- Glass, N. L., Jacobson, D. J., & Shiu, P. K. (2000). The genetics of hyphal fusion and vegetative incompatibility in filamentous ascomycete fungi. *Annual Review of Genetics*, 34(1), 165–186.
- Hambleton, S., Walker, C., & Kohn, L. M. (2002). Clonal lineages of *Sclerotinia sclerotiorum* previously known from other crops predominate in 1999–2000 samples from Ontario and Quebec soybean. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 24(3), 309–315.
- Hemmati, R., Javan-Nikkhah, M., & Linde, C. C. (2009). Population genetic structure of *Sclerotinia sclerotiorum* on canola in Iran. *European Journal of Plant Pathology*, 125(4), 617–628.
- Irani, H., Heydari, A., Javan-Nikkhah, M., & Ibrahimov, A. (2011). Pathogenicity variation and mycelial compatibility groups in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Plant Protection Research*, 51(4), 329–336.
- Karimi, E., Safaie, N., & Shams-Bakhsh, M. (2012). Mycelial compatibility groupings and pathogenic diversity of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary populations on canola in Golestan province of Iran. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14(2), 421–434.

- Kessler, D., Sang, H., Bousquet, A., Hulvey, J. P., Garcia, D., Rhee, S., Hoshino, Y., Yamada, T., & Jung, G. (2018). Nucleic adaptability of heterokaryons to fungicides in a multinucleate fungus, *Sclerotinia homoeocarpa*. *Fungal Genetics and Biology*, 115, 64–77.
- Kohn, L. M., Carbone, I., & Anderson, J. B. (1990). Mycelial interactions in *Sclerotinia sclerotiorum*. *Experimental Mycology*, 14(3), 255–267.
- Kohn, L. M., Stasovski, E., Carbone, I., Royer, J., & Anderson, J. B. (1991). Mycelial incompatibility and molecular markers identify genetic variability in field populations of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology*, 81(4), 480–485.
- Kull, L. S., Pedersen, W. L., Palmquist, D., & Hartman, G. L. (2004). Mycelial compatibility grouping and aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Disease*, 88(4), 325–332.
- Lehner, M. S., de Paula Júnior, T. J., Del Ponte, E. M., Mizubuti, E. S., & Pethybridge, S. J. (2017). Independently founded populations of *Sclerotinia sclerotiorum* from a tropical and a temperate region have similar genetic structure. *PLoS One*, 12(3), e0173915.
- Lehner, M. S., Lima, R. C., Carneiro, J. E. S., Paula Júnior, T. J., Vieira, R. F., & Mizubuti, E. S. G. (2016). Similar aggressiveness of phenotypically and genotypically distinct isolates of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Disease*, 100(2), 360–366.
- Lehner, M. S., Silva, R. A., Paula Júnior, T. J., Carneiro, J. E. S., & Mizubuti, E. S. (2019). The population of *Sclerotinia sclerotiorum* affecting common bean in Brazil is structured by mycelial compatibility groups. *Tropical Plant Pathology*, 44(1), 41–52.
- Magurran, A. E. (2004). *Measuring biological diversity*. Blackwell Publishing.
- Marciano, P., Lenna, P. D., & Magro, P. (1983). Oxalic acid, cell wall-degrading enzymes and pH in pathogenesis and their significance in the virulence of two *Sclerotinia sclerotiorum* isolates on sunflower. *Physiological Plant Pathology*, 22(3), 339–345.
- Miorini, T. J., Kamvar, Z. N., Higgins, R. S., Raetano, C. G., Steadman, J. R., & Everhart, S. E. (2019). Differential aggressiveness of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates from North and South America and partial host resistance in Brazilian soybean and dry bean cultivars. *Tropical Plant Pathology*, 44(1), 73–81.
- Molaei, H., Abrinbana, M., & Ghosta, Y. (2020). Baseline sensitivities to azoxystrobin and tebuconazole in *Sclerotinia sclerotiorum* isolates from sunflower in Iran related to sensitivities to carbendazim and iprodione. *Journal of Phytopathology*, 168(6), 353–362.
- Morrall, R. A. A., Duczek, L. J., & Sheard, J. W. (1972). Variations and correlations within and between morphology, pathogenicity, and pectolytic enzyme activity in *Sclerotinia* from Saskatchewan. *Canadian Journal of Botany*, 50(4), 767–786.
- Mousa Khalifani, K., Darvishzadeh, R., & Abrinbana, M. (2018). Aggressiveness diversity of *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. minor* isolates in west Azarbaijan province and specific interaction of sunflower lines with the isolates of these pathogens. *Journal of Applied Research in Plant Protection*, 7(1), 135–150. (In Farsi with English summary).
- Mousa Khalifani, K., Darvishzadeh, R., Abrinbana, M., & Nouri, A. (2019). Identification of microsatellite markers linked with genomic regions involved in resistance to basal stem rot disease

isolates in oily sunflower (*Helianthus annuus* L.) under controlled conditions. *Plant Genetic Researches*, 5(2), 1–16. (In Farsi with English summary).

Najafzadeh, R., Darvishzadeh, R., Musa-Khalifani, K., Abrinbana, M., & Alipour, H. (2018). Retrotransposonable regions of sunflower genome having relevance with resistance to *Sclerotinia* species: *S. sclerotiorum* and *S. minor*. *Australasian Plant Pathology*, 47(5), 511–519.

Ojaghian, M. R., & Xie, G. L. (2012). Identifying mycelial compatibility groups of *Sclerotinia sclerotiorum* using potato dextrose agar amended with activated charcoal. *Journal of Plant Protection Research*, 52(1), 77–82.

Otto-Hanson, L., Steadman, J. R., Higgins, R., & Eskridge, K. M. (2011). Variation in *Sclerotinia sclerotiorum* bean isolates from multisite resistance screening locations. *Plant Disease*, 95(11), 1370–1377.

Poudel, R. S., Belay, K., Nelson Jr, B., Brueggeman, R., & Underwood, W. (2023). Population and genome-wide association studies of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates collected from diverse host plants throughout the United States. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1251003.

Purdy, L. (1979). *Sclerotinia sclerotiorum*: history, diseases and symptomatology, host range, geographic distribution, and impact. *Phytopathology*, 69(8), 875–880.

Riddle, G. E., Burpee, L. L., & Boland, G. J. (1991). Virulence of *Sclerotinia sclerotiorum* and *S. minor* on dandelion (*Taraxacum officinale*). *Weed Science*, 39(1), 109–118.

Saharan, G. S., & Mehta, N. (2008). *Sclerotinia diseases of crop plants: biology, ecology and disease management*. Springer Science & Business Media.

Sexton, A. C., & Howlett, B. J. (2004). Microsatellite markers reveal genetic differentiation among populations of *Sclerotinia sclerotiorum* from Australian canola fields. *Current Genetics*, 46(6), 357–365.

Vakili Zarej, Z., & Rahnama, K. (2008). Study on mycelial compatibility of *Sclerotinia sclerotiorum* isolates from canola field of Golestan. *Iranian Plant Protection Research*, 22(2), 147–159. (In Farsi with English summary).

Willbur, J. F., Ding, S., Marks, M. E., Lucas, H., Grau, C. R., Groves, C. L., Kabbage, M., & Smith, D. L. (2017). Comprehensive *Sclerotinia* stem rot screening of soybean germplasm requires multiple isolates of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Plant Disease*, 101(2), 344–353.

Yousefdoost, V., & Ghosta, Y. (2015). Mycelial compatibility groups and pathogenicity of isolates of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) De Bary, causal agent of cabbage head rot in Urmia. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 38(1), 67–78. (In Farsi with English summary).



© 2024 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).