

تعیین فنوتیپ‌های جهش‌یافته نیت مقاوم به کلرات و بررسی فراوانی آن‌ها در قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *sesami* عامل بیماری پژمردگی و زردی کنجد در استان فارس

صدیقه محمدی^{۱*}، سعید رضایی^۲، محمد رضوی^۳، رسول زارع^۴ و حمید رضا زمانی‌زاده^۲

چکیده

به منظور تعیین فنوتیپ‌های جهش‌یافته نیت مقاوم به کلرات و بررسی فراوانی آن‌ها در جمعیت قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *sesami* عامل بیماری زردی و پژمردگی کنجد در استان فارس، در سال‌های ۱۳۸۵ و ۱۳۸۶ اقدام به جداسازی بیمارگر از بوته‌های آلوده کنجد در شهرستان‌های داراب، فسا، نورآباد، کازرون، نی‌ریز، استهبان و زرقان گردید. در این تحقیق در مجموع ۳۲ جدایه بیماری‌زا با منشاء جغرافیایی متنوع انتخاب و مورد ارزیابی قرار گرفت. سکتورها و جهش‌یافته‌های نیت مقاوم به کلرات این جدایه‌ها با استفاده از محیط کشت‌های MMC و PDC به دست آمد. فراوانی جهش‌یافته‌های نیت در محیط MMC از مجموع ۳۵۶ سکتور، ۷۹/۵ درصد و در محیط PDC از مجموع ۴۱۵ سکتور، ۷۴/۱۶ درصد بود. سایر سکتورها جهش‌یافته‌های Crn بودند که در محیط کشت، حداقل رشد سویه وحشی را از خود نشان دادند. کلاس فنوتیپی جهش‌یافته‌های مقاوم به کلرات با استفاده از محیط کشت‌های حاوی نترات، نیتريت و هیپوزانتین به عنوان تنها منبع تأمین‌کننده نیتروژن تعیین شد. این جهش‌یافته‌ها در سه فنوتیپ *nit1 nit3* و *nitM* گروه‌بندی شدند. در محیط PDC، ۶۳/۹۴ درصد از جهش‌یافته‌ها *nit1* و در محیط MMC، ۳۷/۱۲ و ۱۴/۴ درصد از جهش‌یافته‌ها به ترتیب *nit3* و *nitM* بودند.

واژه‌های کلیدی: جهش، نیت مقاوم به کلرات، گروه‌های سازگار رویشی، پژمردگی و زردی کنجد، فارس.

تاریخ دریافت مقاله: ۸۸/۳/۲۳ تاریخ پذیرش: ۸۹/۶/۱۱

۱، ۲ و ۵- به ترتیب دانشجوی دکتری، استادیار و دانشیار گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران.

۳- استادیار بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهان، مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور.

۴- استاد بخش تحقیقات رستنی‌ها، مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور.

* مسئول مکاتبات: Mohammadi.pp@gmail.com

مقدمه

کنجد *Sesamum indicum* گیاهی از تیره *Pedaliaceae* بوده و محصول مهم و اقتصادی در آسیا و خاورمیانه محسوب می‌شود (Banihashemi, 1981). یکی از عوامل محدود کننده کشت این گیاه در مناطق مختلف دنیا، بیماری زردی و پژمردگی است که تقریباً ۶۰ درصد محصول را کاهش می‌دهد (Abdou, et al., 2001). کاستلانی (Castellani, 1950) در ایتالیا عامل بیماری پژمردگی و زردی در کنجد را قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *sesami* (Zapron) Castell. (FOS) اعلام نمود. علایم عمده این بیماری شامل زردی، پژمردگی و نکروز یک طرفه ساقه است (Banihashemi, 1981). این بیماری در طی سال‌های ۱۹۶۱ و ۱۹۶۴ در آمریکا همه‌گیر شد (Hillocks and Woller, 1997). این بیماری، نخستین بار در ایران در سال ۱۳۵۹ توسط بنی‌هاشمی، در یکی از روستاهای بوشهر مشاهده و گزارش گردید (Banihashemi, 1981).

آزمایش‌های بیماری‌زایی، یک ویژگی مهم و مفید برای تمایز فرم‌های تخصص یافته از قارچ *F. oxysporum* می‌باشد. با این وجود، در این نوع آزمایش‌ها فقط از صفت بیماری‌زایی جدایه‌ها استفاده می‌شود که تحت تأثیر عوامل متعددی از قبیل دما، سن میزبان، روش مایه‌زنی و دامنه میزبانی قرار می‌گیرد (Correl et al., 1987). بنابراین، نتیجه حاصله همیشه از ثبات و یکنواختی لازم برخوردار نیست. این امر تشخیص جدایه‌های مختلف قارچ را با مشکل مواجه می‌سازد. از طرف دیگر، مدیریت بیماری و معرفی ارقام مقاوم نیاز به شناخت کافی از ژنتیک بیمارگر دارد. به دلیل اشکالات فوق در امر شناسایی این قبیل فرم‌های تخصص یافته، محققین استفاده از گروه‌های سازگاری رویشی را به عنوان شاخصی برای طبقه‌بندی جدایه‌های مختلف و بررسی میزان تنوع ژنتیکی بیمارگر مفید دانسته‌اند (Kistler, 1997).

پوهالا (Puhalla, 1985) با بهره‌گیری از روش‌های ژنتیکی و مولکولی سعی در تشخیص و طبقه‌بندی سویه‌های *F. oxysporum* نمود. روش‌هایی که ایشان به کار برد، نسبت به روش‌های مبنی بر مورفولوژی و یا وابسته به دامنه میزبانی، نتایج دقیق‌تری به همراه داشت. وی با ایجاد جهش‌یافته‌هایی موسوم به جهش‌یافته‌های *nit* که قادر به استفاده از نیترا ت به

عنوان منبع نیتروژنی نبودند، گروه‌های سازگار رویشی^۱ را در بین جدایه‌های *F. oxysporum* تعیین نمود. این جهش‌یافته‌ها در سه فنوتیپ *nit1 nit3* و *NitM* جای داشتند. اساس این تقسیم‌بندی تفاوت در توانایی استفاده از منابع نیتروژنی متفاوت بود. پوهالا از دو محیط MMC^۲ و PDC^۳ با میزان ۱/۵ درصد کلرات جهت به‌دست آوردن جهش‌یافته‌های نیت استفاده کرد. روی این محیط‌ها، رشد سویه وحشی محدود شده و سکنتورهای سریع‌الرشد و مقاوم به کلرات به صورت نازک و بدون میسیلیوم هوایی رشد می‌کنند. جهش‌یافته‌های *nit1* و *nit3* به ترتیب به علت وقوع جهش در مکان‌های ژنی آنزیم احیا کننده نیترا ت، مسیر مصرف نیترا ت و کوفاکتورهای مورد نیاز جهت فعالیت نیترا ت ردکتاز به ترتیب قادر به استفاده از نیترا ت، نیترا ت و نیترا ت و نیترا ت و هیپوزانتین نمی‌باشند.

جهش‌یافته‌های نیت توانایی یکسانی جهت تشکیل هتروکاریون ندارند. در کلاس‌های فنوتیپی *nit1* و *nit3* جهش در یک لوکوس اتفاق افتاده است. بنابراین، تشکیل هتروکاریون در این کلاس‌ها نادر است. در کلاس فنوتیپی *NitM* جهش در چند مکان ژنی صورت گرفته و تعداد آن از دو جهش‌یافته دیگر کمتر است. این جهش‌یافته توانایی خوبی در ایجاد هتروکاریون با دو جهش‌یافته دیگر دارد (Katan and Katan, 1999).

بر اساس تحقیق کورل و همکاران (Correl et al., 1987) بیشترین تعداد جهش‌یافته‌های نیت به‌دست آمده از محیط‌های PDC و MMC، *nit1* بودند. در حالی که تعداد جهش‌یافته‌های *nit3* و *NitM* در محیط MMC بیشتر از مقدار این جهش‌یافته‌ها در محیط PDC بود. پاسکوالی و همکاران (Pasquali, et al., 2005) نیز جهت به‌دست آوردن جهش‌یافته‌های نیت در قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *lactucae* از محیط MMC استفاده کردند. جهش‌یافته‌های نیت در قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* با استفاده از محیط‌های KSP^۴ و KMM^۵ با ۱/۵ تا ۴/۵ درصد کلرات به دست آمد (Lori et al., 2004).

^۱. Vegetative Compatibility Groups (VCGs)

^۲. Minimal Medium Chlorate

^۳. Potato Dextrose Chlorate

^۴. Potato-Sucrose Chlorate

^۵. Minimal Chlorate Medium

۲۹ درجه سلسیوس و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از دو هفته به منظور تهیه سوسپانسیون اسپور، از هر جدایه یک بلوک به ابعاد یک سانتی متر مربع به ۵۰ میلی لیتر محیط PDB^۲ اضافه و روی دستگاه تکان دهنده با ۶۰ دور در دقیقه به مدت سه شبانه روز تکان داده شد. سپس با استفاده از سانتریفیوژ اسپورهای قارچ از محیط مغذی جدا گردید و ۲۰ میلی لیتر از سوسپانسیون حاصل با غلظت 1×10^6 CFU/ml به هر گلدان اضافه شد. تعدادی گلدان نیز به عنوان شاهد با آب استریل مایه زنی شد (Banhashemi, 1981). ظهور علائم و پیشرفت بیماری به مدت یک ماه از زمان مایه زنی بررسی شده و پس از اطمینان از وجود علائم بیماری، از قسمت های هوایی گیاه مجدداً به جداسازی عامل بیماری اقدام گردید.

تهیه جهش یافته های نیت

به منظور تهیه جهش یافته های نیت به روش پوهالا (Puhalla, 1985) ابتدا از هر جدایه بلوکی به قطر ۰/۵ سانتی متر از حاشیه پرگنه قارچ عامل بیماری روی بر محیط کشت MM قرار داده شد و به مدت چهار روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شد. از پرگنه به دست آمده، بلوکی به قطر ۰/۵ سانتی متر روی محیط های کشت PDC و MMC حاوی ۳۰ گرم کلرات در لیتر با چهار تکرار کشت و به مدت ۱۵ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس قطعه ای از میسیلیوم حاشیه خارجی سکتورها، جدا و به محیط MM منتقل گردید. پس از چهار روز از پرگنه های حاصل که دارای رشد نازک و فاقد میسیلیوم هوایی بودند، بلوک هایی برداشته شده و روی محیط MM کشت شدند. این جهش یافته ها، قادر به استفاده از نیترا ت محیط کشت به عنوان تنها منبع نیتروژنی محیط نبودند.

تعیین کلاس فنوتیپی جهش یافته های نیت

در این مرحله نیز از روش پوهالا (Puhalla, 1985) استفاده شد. ابتدا هر کدام از جهش یافته های نیت حاصل از محیط های کشت PDC و MMC، روی محیط های کشت پایه حاوی یکی از منابع نیتروژنی نیترا ت، نیتريت و هیپوزانتین کشت گردید. تشک های پتری به مدت چهار روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. تعیین کلاس فنوتیپی بر

اگر جهش یافته های نیت از دو جدایه برای تشکیل هتروکاریون سویه وحشی آناستوموز کنند و روی محیط حداقل نیترا ت^۱ جفت شوند، در یک گروه سازگاری رویشی قرار می گیرند. عدم تشکیل هتروکاریون بین جهش یافته های نیت که از والد مشابهی به دست آمده اند، دلیلی بر خودناسازگاری رویشی است. در حالی که عدم ایجاد هتروکاریون بین جهش یافته های نیت که از والد متفاوتی به دست آمده اند دلیل بر عدم سازگاری رویشی است (Vakalounakis, and Fragkiadakis, 1999).

هدف از این تحقیق، بررسی قابلیت محیط های کشت کلرات دار در تولید سکتورها و جهش یافته های نیت و همچنین یافتن مناسب ترین محیط برای تولید جهش یافته nitM به عنوان مؤثرترین جهش یافته در بررسی های گروه های سازگاری رویشی بود.

مواد و روش ها

جداسازی عامل بیماری

جداسازی قارچ عامل بیماری از گیاهان دارای علائم پژمردگی، زردی، ضعف عمومی و نکروز یک طرفه ساقه در مراحل قبل و بعد از گل دهی و کپسول دهی از مناطق زیر کشت کنجد در استان فارس شامل شهرستان های نورآباد، نی ریز، استهبان، فسا، داراب، زرقان و کازرون انجام گرفت. خالص سازی جدایه ها در محیط کشت آب آگار و با روش تک اسپور کردن و نوک ریسه انجام گردید. شناسایی گونه *Fusarium oxysporum* بر اساس مورفولوژی پرگنه و مشخصات اندام های زایشی شامل فیالیدها، ماکرو و میکرو کنیدیوم ها و کلامیدوسپورها انجام گرفت (Nelson et al., 1983). نگهداری کوتاه مدت جدایه ها روی شیب PDA و نگهداری های بلند مدت آن ها در ماسه سترون و در دمای ۴ درجه سلسیوس انجام گرفت (Banhashemi, 1981).

اثبات بیماری زایی

به منظور اثبات بیماری زایی و تعیین فرم تخصصی عامل بیماری از گیاه کنجد رقم داراب ۱۴ استفاده گردید. ده عدد بذر کنجد، در خاک سترون در هر گلدان کشت گردید. گلدان ها در محفظه رشد با چرخه نوری و دمایی ۱۶ ساعت نور با دمای

^۲. Potato Dextrose Broth

^۱. Minimal Medium (MM)

در تعیین کلاس فنوتیپی جهش یافته‌های نیت، از ۳۲ جدایه بیمارگر مربوط به مناطق جغرافیایی مختلف در استان فارس استفاده شد. این جهش یافته‌ها دارای رشد میسلیومی نازک در مقایسه با سویه وحشی بودند. این ویژگی رشد جهش یافته‌های نیت به دلیل وقوع جهش در جایگاه ژنی مربوط به آنزیم‌های نیتراز ردوکتاز و نیتريت ردوکتاز می‌باشد. در این تحقیق، جهش یافته‌های مقاوم به کلرات بر روی محیط‌های کشت MMC و PDC حاوی سه درصد کلرات به‌دست آمد. سکتورهای مقاوم به کلرات به‌دست آمده از محیط کشت PDC بیش از سکتورهای به‌دست آمده از محیط کشت MMC بود. این مسأله نشان می‌دهد محیط PDC از نظر توقف رشد سویه وحشی، تولید سکتورهای سریع‌الرشد و تولید جهش یافته نیت از محیط MMC موفق‌تر است. پاسکوالی و همکاران (Pasquali et al., 2005) نیز جهت به‌دست آوردن جهش یافته‌های نیت قارچ *F. o. f.sp. lactucae* از محیط کشت‌های MMC و PDC استفاده کردند. در تحقیق آنان نیز فراوانی جهش یافته‌های نیت در محیط کشت PDC بیشتر بود. محیط کشت‌های KMM و KSP نیز توسط لوری و همکاران (Lori et al., 2004) جهت تولید جهش یافته‌های نیت مورد استفاده قرار گرفت.

بر اساس مشاهدات پوهالا (Puhalla, 1985) رشد قارچ روی محیط کشت MMC نسبت به PDC با شدت بیشتری محدود می‌شود. سکتورهای مقاوم به کلرات در این محیط کشت معمولاً ۱۵-۱۰ روز پس از کشت ظاهر می‌شود در حالی که رشد قارچ روی محیط کشت PDC با سرعت بیشتری همراه بوده و معمولاً ۷-۶ روز پس از کشت سکتورها ظاهر می‌شوند. در مجموع تعداد سکتورهای به‌دست آمده در این محیط بیش از محیط MMC است. نتایج مشابهی نیز در تحقیق حاضر حاصل گردید.

در تحقیق حاضر فراوانی جهش یافته‌های Crn که در محیط کشت MM رشد سویه وحشی را از خود نشان دادند، در محیط کشت MMC بیش از محیط کشت PDC بود. در تحقیقی دیگر فراوانی این سکتورها در قارچ *F. oxysporum. f. sp. sesami* ۹/۵ درصد گزارش شد (Basirnia, and Banihashemi, 2005).

سکتوردهی تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند دما، میزان تغذیه، فشار انتخابی مانند رشد روی محیط سمی و یا میزان

اساس نحوه رشد پرگنه به صورت رشد سویه وحشی یا رشد ظریف بدون ریشه هوایی روی این محیط‌ها، انجام گرفت. این جهش یافته‌ها در کلاس‌های فنوتیپی *nit3 nit1* و NitM قرار داده شدند.

نتایج و بحث

از نمونه برداری‌های انجام شده از مناطق زیر کشت کنجد در استان فارس، ۶۵ جدایه *Fusarium oxysporum f. sp. sesami* به دست آمد (جدول ۱). از این تعداد جدایه، ۳۲ جدایه از شهرستان‌های مختلف جهت تهیه جهش یافته‌های نیت مورد استفاده قرار گرفت که از همگی، جهش یافته‌های مقاوم به کلرات بر روی محیط‌های کشت MMC و PDC به‌دست آمد. فراوانی سکتوردهی در جدایه‌های مختلف بسیار متفاوت بود. رشد بلوک‌های قارچی روی محیط‌های حاوی کلرات محدود شده و از قسمتی از پرگنه سکتورهای سریع‌الرشد خارج شدند. رشد این سکتورها روی محیط MM به صورت میسلیومی نازک و گسترده بود. این حالت رشد به خاطر عدم توانایی این جهش یافته‌ها در استفاده از نیتراز موجود در محیط کشت به عنوان تنها منبع نیتروژنی محیط بود و به عنوان جهش یافته نیت در نظر گرفته شد.

از سکتورهای مقاوم به کلرات به‌دست آمده از محیط‌های کشت MMC و PDC به ترتیب ۷۹/۵ و ۷۴/۱۶ درصد از سکتورها جهش یافته نیت بود. بر اساس نحوه رشد جهش یافته‌های نیت روی محیط‌های حاوی نیتراز، نیتريت، هیپوزانتین، اسید اوریک و آمونوم کلاس فنوتیپی آن‌ها تعیین شد. جهش یافته‌های نیت در سه کلاس فنوتیپی *nit3 nit1* و NitM قرار گرفتند.

از ۲۶۴ عدد جهش یافته نیت به‌دست آمده از محیط کشت MMC، ۴۸/۴۸ درصد از جهش یافته‌ها *nit1* ۳۷/۱۲ درصد *nit3* و ۱۴/۴ درصد NitM بود. از ۳۳۰ جهش یافته نیت به‌دست آمده از محیط کشت PDC مقدار جهش یافته‌های *nit1* به میزان ۶۳/۹۴ درصد رسید. جهش یافته *nit3* ۲۴/۸۵ و NitM ۱۱/۲۱ درصد از جهش یافته‌ها را به خود اختصاص دادند (جدول ۲). به نظر می‌رسد محیط کشت MMC توانایی بیشتری در تولید جهش یافته NitM داشته باشد.

که توسط لوری و همکاران (Lori et al., 2004) جهت به دست آوردن جهش یافته‌های نیت قارچ *F. oxysporum f.sp. lactucae* مورد استفاده قرار گرفته بود، توانایی خوبی در تولید هر سه نوع جهش یافته داشته است. بنابراین عامل اصلی که فراوانی تولید جهش یافته‌های نیت را تحت تأثیر قرار می‌دهد، نوع منبع نیتروژنی است که در محیط کلرات دار به کار می‌رود. شناخت تأثیر انواع محیط کشت حاوی کلرات در ایجاد جهش یافته *nitM* که اساسی‌ترین جهش یافته در تعیین گروه‌های سازگاری رویشی است می‌تواند به موفقیت هرچه بیشتر در تعیین گروه‌های سازگاری رویشی به عنوان ابزای توانمند در مدیریت بیماری و ایجاد ارقام مقاوم، منجر شود. تولید جهش یافته نیت مهمترین مرحله در بررسی گروه‌های سازگاری رویشی است. بنابراین تعیین کارآمدترین محیط کشت در تولید جهش یافته‌های نیت قدمی مهم در تعیین گروه‌های سازگاری رویشی به عنوان شاخص مهم میزان تنوع ژنتیکی محسوب می‌شود. توانمندترین جهش یافته در بررسی‌های سازگاری رویشی جهش یافته *nitM* است. نتایج این تحقیق نشان داد توانایی تولید جهش یافته نیت توسط محیط کشت PDC بیش از محیط کشت MMC بوده است، اما فراوانی جهش یافته *nitM* در محیط کشت MMC بیشتر بود. در این محیط کشت فراوانی جهش یافته *nit3* نیز بیش از محیط کشت PDC بود. این تحقیق کاربرد محیط کشت MMC را در بررسی‌های گروه‌های سازگاری رویشی پیشنهاد می‌کند.

سپاسگزاری

نگارندگان از جناب آقای دکتر بنی‌هاشمی و خانم مهندس بصیرنیا به خاطر در اختیار قرار دادن تعدادی از جدایه‌های بیمارگر قدردانی می‌نمایند.

مقاوم قرار می‌گیرد. منبع اولیه مایه پرگنه مثل ماکروکنیدیوم، میکروکنیدیوم یا میسلیوم نیز راندمان سکتوردهی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Sarpeleh, and Banihashemi, 2000).

در این تحقیق نشان داده شد تمام جدایه‌های بیمارگر مورد بررسی جهش یافته نیت را تولید کردند. جهش یافته‌های نیت به دست آمده بر اساس مورفولوژی پرگنه روی محیط‌های دارای یکی از منابع نیتروژن مانند نیترات، نیتريت، هیپوزانتین، اسید اوریک و آمونیوم در سه کلاس فنوتیپی *nit1 nit3* و *nitM* قرار گرفتند.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد فراوانی جهش یافته *nit1* در محیط کشت PDC بیش از محیط کشت MMC می‌باشد. در مقابل فراوانی جهش یافته‌های *nit3* و *nitM* در محیط کشت MMC بیشتر می‌باشد. نتایج مشابهی نیز از تحقیق کورل و همکاران (Correl et al., 1987) به دست آمده است. در تحقیق آن‌ها بیشترین تعداد جهش یافته‌های نیت به دست آمده از محیط‌های کشت PDC و MMC *nit1* بود، ولی جهش یافته‌های *nit3* و *nitM* در محیط MMC بیشتر از مقدار این جهش یافته‌ها در محیط کشت PDC بود.

به نظر می‌رسد محیط کشت MMC توانایی بیشتری در تولید جهش یافته *nitM* داشته باشد. تعداد جهش یافته *nitM* به دلیل وقوع جهش در چند لوکوس از دو جهش یافته دیگر کمتر است. این جهش یافته توانایی خوبی در ایجاد هتروکاریون با دو جهش یافته دیگر دارد (Katan, and Katan, 1999).

کاو (Cove, 1976) ثابت کرد منبع نیتروژن مورد استفاده در محیط کلرات دار فراوانی نسبی جهش یافته‌های نیت را تحت تأثیر قرار می‌دهد. استفاده از ترئونین در محیط کشت کلرات دار باعث باززایی بیشتر جهش یافته‌های نیت می‌شود (Pasquali, et al., 2005). محیط‌های کشت KSP و KMM

جدول ۱- جدایه‌های بیمارگر به دست آمده از مناطق مختلف استان فارس

Table1. Pathogen isolates from different regions of Fars province

محل جداسازی	جدایه
Location	Isolate
Darab داراب	Fo1-Fo4
Fasa فسا	Fo15-Fo23
Estahban استهبان	Fo24-Fo38
Neyriz نیریز	Fo39-Fo46
Noor Abad نورآباد	Fo47-Fo60
Kazeroun کازرون	Fo61
Razghan رزقان	Fo62-Fo65

جدول ۲- فراوانی انواع فنوتیپ‌های جهش یافته نیت در محیط کشت‌های کلرات دار

Table2. Frequency of different phenotypes of nit mutants in mediums containing chlorate

محیط کشت‌های کلرات‌دار	کل سکتورها	Nit	Crn	Nit1	Nit3	nitM
MMC	356	264	92	128	98	38
PDC	415	330	85	211	82	37
مجموع	771	594	177	339	180	75

References

منابع

- Abdou E, Abd-Ala HM, Galal AA (2001) Survey of sesame root rot/wilt disease in Minia and their possible control by ascorbic and salicylic acids (abstr). Journal of Agricultural Science 32: 135-152.
- Banihashemi Z (1968) The biology and ecology of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in soil and root zones of host and nonhost plants. Ph.D. Thesis, Michigan State University. 114 pp.
- Banihashemi Z (1981) *Fusarium* wilt of sesame in Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 17: 75-79. [In Persian with English Abstract].
- Basirnia T, Banihashemi Z (2005) Vegetative compatibility grouping in *Fusarium oxysporum* f. sp. *sesami*, the causal agent of sesame yellows and wilt in Fars province. Iranian Journal of Plant Pathology 41:117-123. [In Persian with English Abstract].
- Castellani E (1950) L vizzimento del sesamo. Olearia 4:20-31 (Review of Applied Mycology 30: 78-95).
- Correl JC, Kittich CJR, Leslile JF (1987) Nitrate nonutilizing mutants of *Fusarium oxysporum* and their use in vegetative tests. Phytopathology 77: 1640-1646.
- Cove DJ (1976) Chlorate toxicity in *Aspergillus nidulans*: the selection and characterization of chlorate resistant mutant. Heredity 36: 191-203.
- Hillocks RJ, Woller JM (1997) Soilborn diseases of tropical crops. CAB. International. 452 pp.
- Kistler HC (1997) Genetic diversity in the plant – pathogenic fungus, *Fusarium oxysporum*. Phytopathology 87: 474 - 479.
- Katan T, Katan J (1999) Vegetative compatibility grouping in *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis- lycopersici* from the UK, the Netherland, Belgium and France. Plant Pathology 48:541-594.
- Klittich CJR, Leslie JF (1988) Nitrate reduction mutants of *Fusarium moniliforme* (*Gibberella fujikuroi*). Genetics 118: 417-423.

- Lori G, Edel-Herman V, Gautheron N, Alabouvette C (2004) Genetic diversity of pathogenic and nonpathogenic populations of *Fusarium oxysporum* isolated from carnation field in Argenyina. *Phytopathology* 94: 661-668.
- Nelson PE, Toussoum TA, Marasas WFO (1983) *Fusarium* species, a manual for identification. The Pennsylvania State University Press, 193 pp.
- Pasquali M, Dematheis F, Gilardi G, Gallino ML, Garibaldi A (2005) Vegetative compatibility groups of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lactucae* from lettuce. *Plant Disease* 89: 237-240.
- Puhalla JE (1985) Classification of strains of *Fusarium oxysporum* on the basis of vegetative compatibility. *Canadian Journal of Botany* 63: 179-183.
- Sarpeleh A, Banihashemi Z (2000) Vegetative compatibility groups within races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* in Iran and *Fusarium oxysporum* isolates from weeds in Maharloo region, Fars province. *Iranian Journal of Plant Pathology* 36:31-46. [In Persian with English Abstract].
- Vakalounakis DJ, Fragkiadakis GA (1999) Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from cucumber: differentiation by pathogenicity, vegetative compatibility and RAPD fingerprinting. *Phytopathology* 89: 161-168.