

بررسی فیلوژنتیکی جدایه‌های گروه گونه‌ای *Fusarium graminearum* جدا شده از خوشه گندم در مناطق شمال ایران

کسری شریفی^۱، حمیدرضا زمانی‌زاده^۱، رسول زارع^۲، منصوره میرابوالفتحی^۲ و سعید رضائی^۱

۱. دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

۲. موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور

kasharifi@yahoo.com

گندم یکی از محصولات زراعی اقتصادی و مهم در استان گلستان و مازندران است. بلایت فوزاریومی خوشه یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گندم در این مناطق است که توسط گونه‌هایی از جنس فوزاریوم به‌خصوص گونه مرکب *Fusarium graminearum species complex* (FGSC) ایجاد می‌شود. *F. graminearum species complex* عامل بیماری‌زای مهم گندم و دیگر غلات در سراسر جهان است. این گروه گونه‌ای متشکل از حداقل ۱۵ گونه فیلوژنتیکی است که می‌توانند مایکوتوکسین‌های مختلف، از جمله تریکوتسین‌ها که برای انسان و دام بسیار خطرناک هستند را تولید کنند. به منظور تعیین گونه‌های فیلوژنتیکی *F. graminearum species complex* در شمال ایران، نمونه‌های گندم با علائم آلودگی به فوزاریوم خوشه از مناطق تولید اصلی گندم در استان‌های گلستان (کلاله، مینودشت، آزادشهر، علی‌آباد، گرگان، کردکوی و بندرگز) و مازندران (گلوگاه، بهشهر، ساری، جویبار و قائم‌شهر) در سال ۱۳۹۴ جمع‌آوری شد. برای جدا سازی عوامل بیماری‌زا، خوشه‌های گندم در هیپوکلیت سدیم ۱۵ درصد به مدت یک دقیقه ضد عفونی سطحی و شستشو با آب مقطر استریل روی کاغذ صافی خشک شدند. دانه‌های جدا شده از سنبلچه‌ها در ظروف پتری حاوی محیط کشت اختصاصی فوزاریوم (Nash-Snyder) کشت و به مدت ۴ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پرگنه‌های فوزاریوم به محیط کشت سب‌زمینی دکستروز آگار منتقل و به روش تک اسپور کردن خالص شدند. برای شناسایی مورفولوژیکی، جدایه‌ها در محیط کشت‌های SNA و آگار برگ میخک کشت و به مدت ۱۰ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس تحت نور نزدیک ماوراء بنفش نگهداری شدند. بر اساس صفات مورفولوژیکی از جمله نوع فیالیدها، وجود کلامیدوسپور و میکروکنیدی، شکل و اندازه ماکروکنیدی شناسایی شدند. از ۱۸۸ جدایه فوزاریوم، ۱۴۶ جدایه متعلق به گروه گونه‌ای *F. graminearum* تشخیص داده شدند. ۵۶ جدایه از جدایه‌های مذکور برای بررسی فیلوژنتیکی بر اساس مناطق جدا سازی انتخاب شدند. جدایه‌ها برای تکثیر میسلیوم در محیط کشت Wickerham شامل دکستروز، عصاره مالت، عصاره مخمر و پپتون کشت داده شدند و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۷ روز نگهداری شدند. استخراج DNA با روش اصلاح شده CTAB انجام و با استفاده از آغازگرهای مرتبط، ناحیه ژنی *translation elongation factor 1-alpha (TEF-1α)* تکثیر شد. توالی یابی محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) توسط شرکت ماکروژن کشور کره جنوبی صورت گرفت. توالی‌ها با استفاده از نرم افزار مگا شش (Mega 6) ویرایش و تجزیه و به روش حداکثر پارسیمونی تحلیل شدند. نتایج بدست آمده نشان داد که تقریباً همه جدایه‌ها متعلق به گونه‌ی فیلوژنتیکی *F. graminearum sensu stricto* هستند هر چند بین آن‌ها تفاوت‌هایی مشهود بود. با توجه به نتایج می‌توان گفت عامل اصلی بیماری بلایت فوزاریومی خوشه در شمال ایران از یک ترکیب همگن ژنتیکی در بین جدایه‌ها برخوردار است. برای دستیابی به نتایج دقیق‌تر، تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی بر اساس ژن‌های مرتبط دیگر در حال انجام است.

واژه‌های کلیدی: بلایت فوزاریومی خوشه، *F. graminearum sensu stricto*، فیلوژنی، TEF-1α