ژنتیک نوین
دوره یازدهم، شماره ٤، زمستان ١٣٩٥
صفحه ٦١٥ - ٦٠٥

تنوع ژنتیکی جدایه‌های *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* عامل پژمردگی نخود در استان کرمانشاه با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره

Genetic diversity of *F. oxysporium* f. sp. *ciceri* isolates causal agent of wilt chickpea in Kermanshah province using microsatellite markers

خشنود نوراللهی*[۱]، افسانه علی‌آران[۱]، حسن یونسی[۲]

۱- به‌ترتیب استادیار، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه ایلام
۲- مربی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه

Nourollahi KH*[1], Aliaran A[1], Yonessi H[2]

1-Assistant professor, Former MSc Student, Department Plant of protection, Ilam university, Iran

2-Instructor, Natural resources and Agricultural research center of Kermanshah

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: k.nourollahi@ilam.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹٤/۱/۳۰ - تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۱۸)

چکیده

بیماری پژمردگی یکی از مهم‌ترین بیماری‌های نخود در استان کرمانشاه است که توسط قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* (Foc) ایجاد می‌شود. برای تعیین تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های قارچ Foc از گیاهان آلوده نخود در مزارع مختلف استان کرمانشاه شامل اسلام آباد، سرپل ذهاب، درود فرامان، ماهی‌دشت و هرسین که علائم زردی و پژمردگی داشتند، به‌طور تصادفی نمونه‌برداری صورت گرفت. در نهایت ٤٥ جدایه قارچ Foc از نمونه‌های آلوده با استفاده از محیط کشت سیب‌زمینی، دکستروز، آگار جداسازی شد. برای مطالعهٔ ساختار ژنتیکی در جدایه‌ها از پنج جفت آغازگر ریزماهواره استفاده شد. همه آغازگرها ۱۰۰ درصد چندشکلی نشان دادند و تعداد ۱۵ آلل مختلف در بین همه جدایه‌ها مشخص شد. میانگین میزان محتوای اطلاعات چندشکلی نشانگرها ۹۱ درصد بود. براساس دندروگرام با روش الحاق مجاور، جدایه‌ها به نه گروه مختلف تقسیم شدند. مقایسهٔ پارامترهای مربوط به تنوع ژنتیکی از جمله ضریب شانون در جمعیت‌ها نشان داد که جدایه‌های منطقه درودفرامان دارای بالاترین تنوع ژنتیکی می‌باشند. کم‌ترین فاصله ژنتیکی بین جدایه‌های هرسین و درودفرامان مشاهده شد. تجزیه واریانس مولکولی نشان داد که میزان تنوع ژنتیکی در درون جمعیت‌ها ۹۳ درصد و بین جمعیت‌ها هفت درصد می‌باشد. نتایج به‌دست آمده از این مطالعه می‌تواند در اصلاح ارقام مقاوم و گسترش اقدامات قرنطینه‌ای بسیار مفید باشد.

واژه‌های کلیدی

پژمردگی فوزاریومی
تنوع ژنتیکی
Cicer arietinum
SSR

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.13.2]

مقدمه

نخود (*Cicer arietinum* L) یکی از منابع مهم تغذیه انسان به شمار می‌رود. سطح زیر کشت این محصول در ایران معادل ۵۵۰ هزار هکتار بوده و با متوسط عملکرد ۵۳۶ کیلوگرم در هکتار، تولید کل آن در کشورمعادل ۲۹۵ هزار کیلوگرم می‌باشد (FAO 2014). بیش‌ترین سطح کشت و میزان تولید نخود دیم متعلق به استان کرمانشاه می‌باشد. بیماری پژمردگی فوزاریومی با عامل *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* (Padwick) Matuo and K. Sato (Foc) یکی از مهم‌ترین فاکتورهای کاهش عملکرد نخود است (Jalali and Chand 1992; Dubey et al. 2007). قارچ عامل بیماری دارای میسلیوم با دیواره عرضی است، میکروکنیدی‌ها بر روی فیالیدهای کوتاه قرار می‌گیرند. میکروکنیدی‌ها اغلب به‌صورت یک حجره‌ای، بی‌رنگ، استوانه‌ای خمیده تا بیضی کشیده دیده می‌شوند، ماکروکنیدی‌ها بی‌رنگ، هلالی شکل دارای دو سر باریک بوده و قدری خمیده هستند. معمولاً دارای سه تا پنج دیواره عرضی هستند اما ماکروکنیدی‌هایی با شش یا هفت دیواره عرضی نیز دیده می‌شوند، کلامیدوسپورها دارای دیواره صاف یا ناهموار بوده در انتهای رشته میسلیوم و یا مابین رشته‌های میسلیوم بوجود می‌آیند (Leslie and Summerell 2006). عامل بیماری، ساپروفیت اختیاری، بذرزاد و خاکزاد بوده و می‌تواند بدون میزبان تا شش سال در خاک زنده بماند (Haware et al. 1986a, 1986b). خسارت این بیماری در بعضی از مناطق از ۱۰ درصد تا ۱۵ درصد متغییر است و در بعضی از مناطق در شرایط مناسب خسارت آن به ۱۰۰ درصد نیز می‌رسد (Halila and Strange 1996; Navas-Cortes et al. 2000) این بیماری برای اولین بار در ایران در سال ۱۳۴۲ از مزارع کرج، مرند، خوی، اهر و قزوین گزارش شد (Behdad 2010). به‌علت وجود نژادهای فیزیولوژیک متعدد عامل بیماری، استفاده از ارقام مقاوم در جهت کنترل بیماری با مشکل مواجه است (Chakrabarti et al. 2001). ظهور نژادهای جدید بیماری‌زا با ایجاد بیماری بر روی ارقام مختلف نخود باعث کاهش تولید و هم‌چنین کاهش منابع ژنتیکی با ارزش می‌شود. بنابراین شناسایی خصوصیات ژنتیکی بیمارگرهای دارای تنوع بیماری‌زایی بالا، برای مدیریت مناسب بیماری‌های گیاهی لازم و ضروری است. یکی از مهم‌ترین روش‌های مدیریت این بیماری استفاده از ارقام مقاوم است (Nene and Reddy 1987). تشخیص ژنتیکی جدایه‌های (Foc) *F. oxysporum* f. sp *ciceri* نقش بسیار مهمی در مدیریت بیماری با استفاده از ارقام مقاوم در مناطق کشت نخود دارد اما میزان موفقیت آن تحت تأثیر تنوع بیماری‌زایی جمعیت‌های Foc قرار می‌گیرد (Jime´nez-Dı´az et al. 1993) روش تشخیص نژادهای بیمارگر با کمک مطالعه واکنش جدایه‌های مختلف قارچ بر روی ارقام افتراقی صورت می‌گیرد (Sharma et al. 2009). این روش گران و زمان‌بر بوده و برای تکمیل آن حداقل به ۴۰ روز زمان نیاز است (Kelly et al. 1994). روش آسان، سریع و کم هزینه برای تعیین تنوع در قارچ‌های بیمارگر استفاده از روش‌های ملکولی می‌باشد. در سال‌های اخیر از نشانگرهای ملکولی مانند RAPD، SSR و AFLP برای مطالعه تنوع ژنتیکی و تنوع نژادهای Foc استفاده شده‌است (Kelley et al. 1994; Jimnez Gasco et al. 2001; Jimnez Gasco and Jimnez-Diaz 2003; Gurjar et al. 2009). برای تشخیص نژادهای مختلف Foc، ۹۹ جدایه از مناطق مختلف جهان با کمک نشانگرهای RAPD مورد مطالعه قرار گرفته و این جدایه‌ها در گروه‌های مختلف قرار گرفته‌اند (Jim´enez-Gasco et al. 2001). هم‌چنین درخت ژنی و تکاملی نژادهای Foc با کمک نشانگرهای ملکولی مورد مطالعه قرار گرفته‌است (Jiménez-Gasco et al. 2002, 2004). مطالعه الگوهای هضم ناشی از آنزیم محدودگر *EcoR*I بر روی rDNA در نژادهای Foc هند نشان داده است که بعضی از نژادها شباهت بیش‌تری به هم دارند (Chakrabarti et al. 2000). از تکنیک SCAR[1] برای مطالعه و تشخیص بعضی از نژادهای Foc استفاده شده‌است (Jiménez-Gasco and Jiménez-Diaz 2003). هم‌چنین برای مطالعه و تعیین نژادها در جدایه‌های Foc از نشانگرهای SSR، TS-RFLP، ISSR، AFLP و توالی EF-1α[2] استفاده شده و به کمک این نشانگرها نژادهای مختلف از همدیگر تفکیک شده‌اند (Gurjar et al. 2009). در مطالعه‌ای تنوع ژنتیکی جدایه‌های Foc با نشانگرهای AFLP و RAPD مورد بررسی قرار گرفته است (Sivaramakrishnan et al. 2003). با استفاده از ۱۵ آغازگر

[1] Sequence characterized amplified regions
[2] Translation Elongation Factor 1 alpha

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.13.2]

RAPD، تنوع ژنتیکی جدایه‌های مختلف Foc نخود در استان خراسان، مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس این مطالعه، بین منشأ جغرافیایی جدایه‌ها و گروه‌های ژنوتیپی، ارتباطی وجود نداشت. به‌علاوه، این نشانگر به‌خوبی توانست جدایه‌های بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا را در نخود تفکیک نماید (Zaker Tavallaee 2003). اولین گزارش از تجزیه و تحلیل تنوع بین جدایه‌های Foc با استفاده از نشانگر RAPD در شمال هندوستان ارائه شده‌است. در این تحقیق، از ٤٠ آغازگر به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی موجود بین جدایه‌ها استفاده شد. از بین این آغازگرها، فقط چهار آغازگر چندشکلی خوبی را نشان دادند. بر اساس نتایج حاصل از این تکنیک، جدایه‌ها بر اساس منشأ جغرافیایی از هم تفکیک شدند (Sing et al. 2006). در مطالعه‌ای با استفاده از نشانگر RAPD اختلاف بین دو پاتوتیپ عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی نخود تشخیص داده شد (Kelly et al. 1994).

از نشانگرهای SSR با واحدهای تکراری دو، سه و چهار نوکلئوتیدی برای مطالعه نژادهای Foc استفاده شده‌است. در یک مطالعه از ۱۳ نشانگر ریزماهواره به‌همراه ۱۱ آنزیم محدودگر در تشخیص چهار نژاد Foc رایج در هند استفاده شد و توالی‌های تکراری مختلف در ژنوم Foc مورد تایید قرار گرفت. بسته به میزان چند شکلی، 5 (AGT)، 5 (ATC) و 4 (GATA) به‌عنوان بهترین پروب[1]های انگشت‌نگاری برای نژادهای Foc معرفی شدند (Barve et al. 2001). در مطالعه‌ای از سه نشانگر مولکولی RAPD، ITS-RFLP و SSR به‌منظور تمایز و تفکیک نژادهای بیمارگر عامل پژمردگی نخود فرنگی در هند استفاده شد. تجزیه خوشه‌ای داده‌های حاصل از نشانگرهای SSR و RAPD، جدایه‌های Foc را در چهار گروه و داده‌های حاصل از ITS-RFLP جدایه‌های مورد بررسی را در سه گروه دسته‌بندی نمود. نتایج حاصل نشان داد که گروه‌بندی جدایه‌های بیماری‌زا هیچ ارتباطی به منطقه جغرافیایی ندارد (Datta and Lal 2013). توالی‌های ریزماهواره به‌عنوان یک نشانگر مبتنی بر PCR برای تعیین نژاد و تنوع ژنتیکی در تعدادی از قارچ‌های رشته‌ای و مخمرها بدون اطلاع از ژنوم آن‌ها استفاده شده‌است (Meyer et al. 2003). نشانگرهای SSR برای تشخیص چهارنژاد در Foc که شدت بیماری‌زایی متفاوتی را بر روی ارقام افتراقی ایجاد می‌کنند به‌کار گرفته شده‌است (Barve et al. 2001). از SSR برای مطالعه تنوع ژنتیکی گونه مرکب *F. oxysporum* استفاده شده‌است (Bogale et al. 2005).

هدف از این مطالعه تشخیص تنوع ژنتیکی جدایه‌های Foc جدا شده از مزارع مناطق مختلف استان کرمانشاه بر اساس نشانگرهای SSR و تخمین ارتباط ژنتیکی جدایه‌هاست تا بتوان از نتایج آن در برنامه‌های مدیریت این بیماری و اصلاح ارقام مقاوم نخود استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از اواخر فروردین تا اواسط خرداد سال ۱۳۹۱ بسته به شرایط آب و هوایی منطقه از اندام‌های هوایی گیاهان آلوده نخود مشکوک به بیماری پژمردگی در اغلب مناطق استان کرمانشاه از جمله، هرسین، حمیل، اسلام آباد غرب، درود فرامان، میان دربند، صورت گرفت. این نمونه‌ها همراه با مشخصات آن‌ها در پاکت‌های کاغذی نگهداری و به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌های آلوده برای انجام آزمایش‌های بعدی به‌مدت یک‌ماه در یخچال در دمای ٤°C تا ٥°C نگهداری شدند. برای جداسازی قارچ، ابتدا بافت‌های گیاهی آلوده از حدواسط بافت آلوده و سالم به قطعات نیم تا یک سانتی‌متری تقسیم شدند. پس از ضدعفونی سطحی با محلول هیپوکلریت سدیم رقیق شده (یک درصد ماده فعال) به مدت یک تا دو دقیقه و سپس در اتانول ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه، با آب‌مقطر استریل سه بار شستشو داده شدند. سپس این قطعات را با کاغذ صافی استریل خشک کرده و تعداد سه تا پنج قطعه از هر نمونه روی محیط کشت عصاره سیب-زمینی، دکستروز، آگار[2] منتقل شدند. تشتک‌های پتری به مدت یک هفته در انکوباتور با دمای ۲۰°C نگهداری شدند. کشت خالص هر یک از جدایه‌ها به روش تک‌اسپور کردن به دست آمد (جدول ۱). شناسایی جدایه‌های فوزاریوم بر اساس خصوصیات مرفولوژی انجام شد (Leslie 2006). برای انجام آزمون بیماری-زایی، ابتدا پنج عدد بذر نخود رقم بیونیج در گلدان‌های حاوی خاک و ماسه به نسبت ۳:۱ کاشته شدند. بعد از این‌که گیاهچه‌ها

[1] Prob

[2] PDA

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.13.2]

به سن دو هفته‌ای رسیدند، مایه‌زنی گیاهچه‌های نخود با استفاده از سوسپانسیون قارچ (بذور گندم تلقیح شده با قارچ) انجام گرفت به این صورت که در مرحله گیاهچه خاک اطراف ریشه‌ها به آرامی کنار زده شد و اسپان قارچ (بذور آلوده به قارچ) در پای ریشه‌ها ریخته شد.

جدول۱- مشخصات جمعیت‌های قارچ Foc به دست آمده از مناطق نمونه-برداری

ردیف	تعداد جدایه ها	منشأ جمعیت
۱	۱۱	اسلام‌آباد
۲	٦	سرپل ذهاب
۳	۹	درود فرامان
٤	۷	ماهیدشت
٥	۱۲	هرسین

گلدان‌ها به صورت یک روز درمیان آبیاری شده و گیاهچه‌ها به مدت یک ماه در این شرایط نگهداری شدند. علائم به صورت زردی و پژمردگی بوته پس از ۲۵ روز مشاهده شد. در نهایت با بررسی نشانه‌های بیماری برای اثبات بیماری‌زایی از طریق اصول کخ، دوباره قارچ عامل بیماری جداسازی شد.

برای به‌دست آوردن میسلیوم جهت استخراج DNA، از محیط کشت مایع سیب‌زمینی[1] استفاده شد. مقدار ۱۵۰ میلی‌لیتر از این محیط کشت در ظرف ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد. سپس این ظروف به‌کمک ۲-۱ قطعه از میسلیوم قارچFoc مایه‌زنی شدند. ارلن‌ها داخل شیکر- انکوباتور با دمای ۲۵°C و ۹۰ دور در دقیقه به مدت پنج روز قرار داده شدند. بعد از این مدت میسلیوم به دست آمده بعد از شستشو با آب‌مقطر سترون، به کمک کاغذ صافی سترون و پمپ خلا آبگیری شد. میسلیوم جدایه‌ها به تفکیک در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای استفاده‌های بعدی نگهداری شدند. جهت استخراج DNA قارچ از روش CTAB[2] با اندکی تغییرات استفاده شد. توده مسیلیومی با ازت مایع خرد شد، سپس ۷۰۰ میکرولیتر از بافر استخراج شامل (100 mM Tris-HCL pH 8.0, 20 mM EDTA, 1.4 M NaCl, 2% CTAB, 0.2% 2-mercaptoethanol) به توده میسلیومی نمونه‌ها به مدت یک ساعت اضافه شد، استخراج با اضافه نمودن محلول کلروفرم-ایزوآمیل الکل به نسبت ۲٤:۱ به مخلوط ادامه یافت، آنزیم RNAase به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷°C به نمونه‌ها اضافه شد و دوباره محلول کلروفرم- ایزوآمیل الکل به نسبت ۲٤:۱ به مخلوط اضافه شد. در مرحله بعد، DNA با سدیم استات یک درصد و ایزوپروپانول سرد (چهار درجه سانتی‌گراد) رسوب داده شد و بعد از شستشو با اتانول ۷۰ درصد و خشک کردن در دمای اتاق در بافر TE یک درصد حاوی 10 mM Tris-HCl pH 7.6, 0.1mM EDTA نگهداری شد (Doyle and Doyle 1990). کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از الکتروفورز ژل آگارز ۰/۸ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

برای بررسی تنوع ژنتیکی از پنج جفت آغازگر ریزماهواره اختصاصی برای Foc استفاده شد (جدول۲). واکنش PCR اختصاصی با استفاده از پنج جفت آغازگر به‌صورت جداگانه برای نشان‌دادن تنوع در نمونه‌ها انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز[3] اختصاصی برای تمامی جدایه‌ها با حجم واکنش µL ۲۵ شامل: بافر PCR ۱۰x به‌مقدار ۲/۵ میکرولیتر، ($MgCl_2$ (50mM، به‌مقدار ۱/۵ میکرولیتر، dNTP (10mM) به‌مقدار ۰/۹ میکرولیتر، یک میکرولیتر از هر آغازگر، (Taq DNA polymerase (5unit µL به-مقدار ۰/۲ میکرولیتر، DNA ژنومی به‌مقدار ۲/۵ میکرولیتر، آب-مقطر سترون ۱۷/٤ میکرولیتر در یک برنامه حرارتی توسط ترموسایکلر مدل بیورد[4] به‌صورت واسرشت‌سازی اولیه در ۹٤°C به مدت سه دقیقه، ۳۵ چرخه شامل واسرشت‌سازی در ۹٤°C به مدت یک دقیقه، اتصال آغازگرها در دمای بین ۵۹-۵۱°C به مدت یک دقیقه، توسعه در ۷۲°C به مدت یک دقیقه و در نهایت یک مرحله توسعه نهایی در ۷۲°C به مدت هفت دقیقه انجام شد.

به‌منظور تفکیک محصول PCR مقدار پنج میکرولیتر از آن در ژل آگارز ۱/۵ درصد به مدت ۹۰ دقیقه با ولتاژ ۹۰ الکتروفورز شد. برای رنگ‌آمیزی ژل از اتیدیوم بروماید یک میکروگرم بر میلی‌لیتر استفاده شد و برای مشاهده باندها، از دستگاه Gel Documentation مدل Intas استفاده شد.

[1] Potato dextrose broth (PDB)
[2] Cetyltrimethyl ammonium bromide
[3] Polymerase Chain Reaction
[4] Biorad

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.13.2]

جدول۲- مشخصات آغازگرهای ریزماهواره مورد استفاده برای مطالعه جدایه‌های *F. oxysporum* (Bogale et al. 2005)

آغازگر	موتیف تکراری	توالی (۳←۵)	دمای اتصال	تعداد آلل‌ها
MB2	(GT)11(GA)6	F: TGCTGTGTATGGATGGATGG R:CATGGTCGATAGCTTGTCTCAG	۵۷	۲
MB5	(TG)9	F:ACTTGGAGAAATGGGCTTC R:GGATGGCGTTTAATAAATCTGG	۵٤	۲
MB11	(GGC)7	F:GTGGACGAACACCTGCATC R:AGATCCTCCACCTCCACCTC	٦۰	۵
MB13	(CTTGGAAGTGGTAGCGG) 14	F:GGAGGATGAGCTCGATGAAG R:CTAAGCCTGCTACACCCTCG	٦۰	۵
MB18	(CAACA)6	F:GGTAGGAAATGACGAAGCTGAC R:TGAGCACTCTAGCACTCCAAAC	٦۱	۲

به‌منظور تعیین میزان تشابه جدایه‌های Foc ابتدا الگوهای باندی حاصل از تکثیر به‌صورت حضور باند (۱) و عدم حضور باند (صفر) امتیازدهی شدند. ماتریس تشابه بین جفت جدایه‌ها با استفاده از ضریب تشابه جاکارد[1] محاسبه و تجزیه خوشه‌ای[2] جدایه‌ها با روش Neighbor joining با نرم‌افزار NTSYS ver 2.02 انجام شد (Rohlf 1998). به‌منظور تشخیص تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها مقادیر فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها، میانگین تنوع ژنی، شاخص شانون، میزان چندشکلی، میانگین تعداد آلل‌های مشاهده شده، متوسط تعدادآلل موثر در هر جایگاه ژنی، میزان تمایز ژنتیکی و جریان ژنی با استفاده از نرم‌افزار Gen Alex ver. 6.501 محاسبه و تجزیه واریانس ملکولی (AMOVA) انجام شد (Peakall and Smouse 2012).

محتوای اطلاعات چندشکلی نشان‌دهنده میزان چندشکلی یک نشانگر می‌باشد که می‌تواند از صفر تا یک متغیر باشد. هر چه این عدد بزرگ‌تر باشد، بیانگر فرآوانی زیاد چندشکلی برای جمعیت مورد مطالعه است (Mohammadi and Prasanna 2003) برای بررسی قدرت تفکیک نشانگرها، محتوای اطلاعات چند شکلی هر نشانگر به‌صورت زیر محاسبه شد.

$$PIC=1-\sum p^2$$

هم‌چنین شاخص نشانگر با ضرب تعداد نوارهای چندشکل در شاخص محتوای اطلاعات چندشکلی به‌دست آمد (Kumar et al. 2009).

[1] Jaccard coefficient
[2] Cluster Analysis

نتایج

تعداد ٤۵ جدایه قارچ از نمونه‌های مختلف در مناطق نمونه‌برداری جداسازی شد که براساس مشخصات ظاهری و شکل اندام‌های مختلف قارچی همه جدایه‌ها به *F. oxysporum* تعلق داشتند. پس از مایه‌زنی قارچ Foc در گلدان‌ها، نشانه‌های بیماری بعد از ۲۵ روز به‌صورت تغییر رنگ و پوسیدگی ریشه‌ها به‌رنگ سیاه ظاهر شد و با پیشروی آلودگی گیاهان دچار پژمردگی و مرگ شدند.

در جایگاه‌های ریزماهواره‌ای، ۱۵ آلل مختلف با متوسط سه آلل در هرجایگاه ژنی مشاهده شد که در جایگاه‌های MB2، MB5، MB11، MB13، MB18، به‌ترتیب دو، سه، سه، سه و چهار آلل ردیابی و تکثیر شدند. بیش‌ترین تعداد آلل (چهار آلل) در آغازگر MB18 و کم‌ترین تعداد آلل (دو آلل) در آغازگر MB2 مشاهده شد (جدول ۳). جمعیت درودفرامان با ۱۲ آلل بیش‌ترین میزان فراوانی آللی را نسبت به دیگر جمعیت‌ها دارا بود. جمعیت درودفرامان با ۰/۲٤۰ بیش‌ترین و جمعیت ماهیدشت با ۰/۲۱۹ کمترین میانگین تنوع آللی را نشان دادند (جدول ۳). در جدول٤ آغازگرهای مختلف و ویژگی‌های آن‌ها آمده است. آغازگر MB18 بیش‌ترین میزان اطلاعات چندشکلی (۰/۹٦) و آغازگر MB2 کم‌ترین میزان اطلاعات چند شکلی (۰/۸۱) را نشان دادند (جدول ٤).

مقدار محاسبه شده شاخص نشانگر در آغازگرهای مورد مطالعه از ۱/٦۲ تا ۳/۸٤ متغیر بود. بیش‌ترین مقدار شاخص نشانگر برای

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.13.2]

آغازگر MB18 بود. متوسط شاخص نشانگر برای نشانگرهای مورد مطالعه ۲/۷۷ می‌باشد که نشان دهنده قدرت تفکیک زیاد این آغازگرها است. درصد چندشکلی جایگاه ژنی در همه آغازگرها ۱۰۰ درصد بود (جدول ٤).

رسم دندروگرام جدایه ها بر اساس روش Neighbor joining نشان داد که جدایه ها در نه گروه مجزا قرار دارند (شکل ۱). این گروه‌ها شامل هشت گروه تک عضوی و یک گروه ۳۷ عضوی بودند که در این گروه، نشان‌دهنده تشابه بالای جدایه‌های با هم است بطوری‌که جدایه‌های FOC41 و FOC7 به‌ترتیب از جمعیت‌های هرسین و اسلام‌آباد غرب؛ در همین گروه با هم ۱۰۰ درصد تشابه ژنتیکی داشته‌اند. بنابراین قرار گرفتن جدایه‌های یک منطقه جغرافیایی در گروه‌های مستقل و جدایه‌های مناطق مختلف در یک گروه نشان دهنده این است که عامل منطقه جغرافیایی با وجود مفید بودن در گروه‌بندی جدایه‌ها نمی‌تواند به عنوان فاکتور کامل و مستقل در این زمینه مورد استفاده قرار گیرد و بیش‌تر تشابه ژنتیکی جدایه ها تحت تاثیر فشار گزینش میزبان، جهش-های ژنتیکی و جریان ژنی ناشی از تبادلات زادمایه بیماری در بین مناطق قرار می‌گیرد (McDonald 1997). برای بررسی تنوع آللی در جدایه‌های مورد مطالعه، از تجزیه به مختصات اصلی در جهت تکمیل تجزیه خوشه‌ای استفاده شد. پراکنش جدایه‌ها در تمامی محورهای مختصات معرف تنوع ژنتیکی بالای جدایه‌ها می‌باشد، بطوری‌که ۲۹/۵۵ درصد از تغییرات ژنتیکی توسط مؤلفه اول و ۱۸/۹۱ از این تغییرات توسط مؤلفه دوم قابل توجیه است و در مجموع ٤٨/٤٦ درصد از تغییرات توسط مؤلفه اول و دوم قابل توجیه است (شکل۲).

اطلاعات حاصل از پنج جایگاه نشان می‌دهد که جمعیت درود فرامان با ۱/٦ بالاترین تعداد آلل و جمعیت ماهیدشت با ۱/۳۳۳ کم‌ترین تعداد آلل را داشتند و میانگین تعداد آلل‌های مشاهده شده در جمعیت‌های مورد مطالعه ۱/٤٦۷ بود. بیش‌ترین تعداد آلل‌های مؤثر مربوط به جمعیت هرسین با ۱/۳۷٤ و کمترین تعداد آلل‌های مؤثر مربوط به جمعیت اسلام آباد با ۱/۳۲۳می‌باشد، متوسط تعداد آلل‌های مؤثر در جمعیت‌ها ۱/۳۵۵ می باشد.

جدول ۳- اطلاعات مربوط به توزیع فراوانی آلل‌ها در جمعیت‌های مختلفFoc براساس نشانگرهای SSR

آغازگرهای ریزماهواره SSR	تعداد آلل‌ها در جمعیت				
	اسلام آباد	سرپل ذهاب	درودفرامان	ماهیدشت	هرسین
MB2	۲	۲	۲	۲	۲
MB5	۲	۲	۲	۳	۲
MB11	۲	۲	۲	۲	۲
MB13	۳	۲	۳	۲	۲
MB18	۲	۳	۳	۲	۳
فراوانی آلل‌ها	۱۱	۱۱	۱۲	۱۱	۱۱
میانگین تنوع آلل‌ها	۰/۲۲۱	۰/۲۳۳	۰/۲٤۰	۰/۲۱۹	۰/۲۳۹

جدول ٤- ویژگی‌های آغازگرهای استفاده شده برای جدایه‌های Foc

آغازگر [1]	دمای اتصال	اندازه آلل‌ها مورد انتظار	تعداد آلل‌های چند شکل	شاخص نشانگر	PIC
MB2	٥۷	٦۰۰-٦٥۰	۲	۱/٦۲	۰/۸۱
MB5	٥٤	۱۰۰۰-۱۱٥۰	۳	۲/۷۹	۰/۹۳
MB11	٦۰	۱۰۰-٤۰۰	۳	۲/۸۲	۰/۹٤
MB13	٦۰	۱۰۰-۲۰۰	۳	۲/۷۹	۰/۹۳
MB18	٦۱	۲٥۰-۳٥۰	٤	۳/۸٤	۰/۹٦
میانگین	-	-	۳	۲/۷۷	۰/۹۱

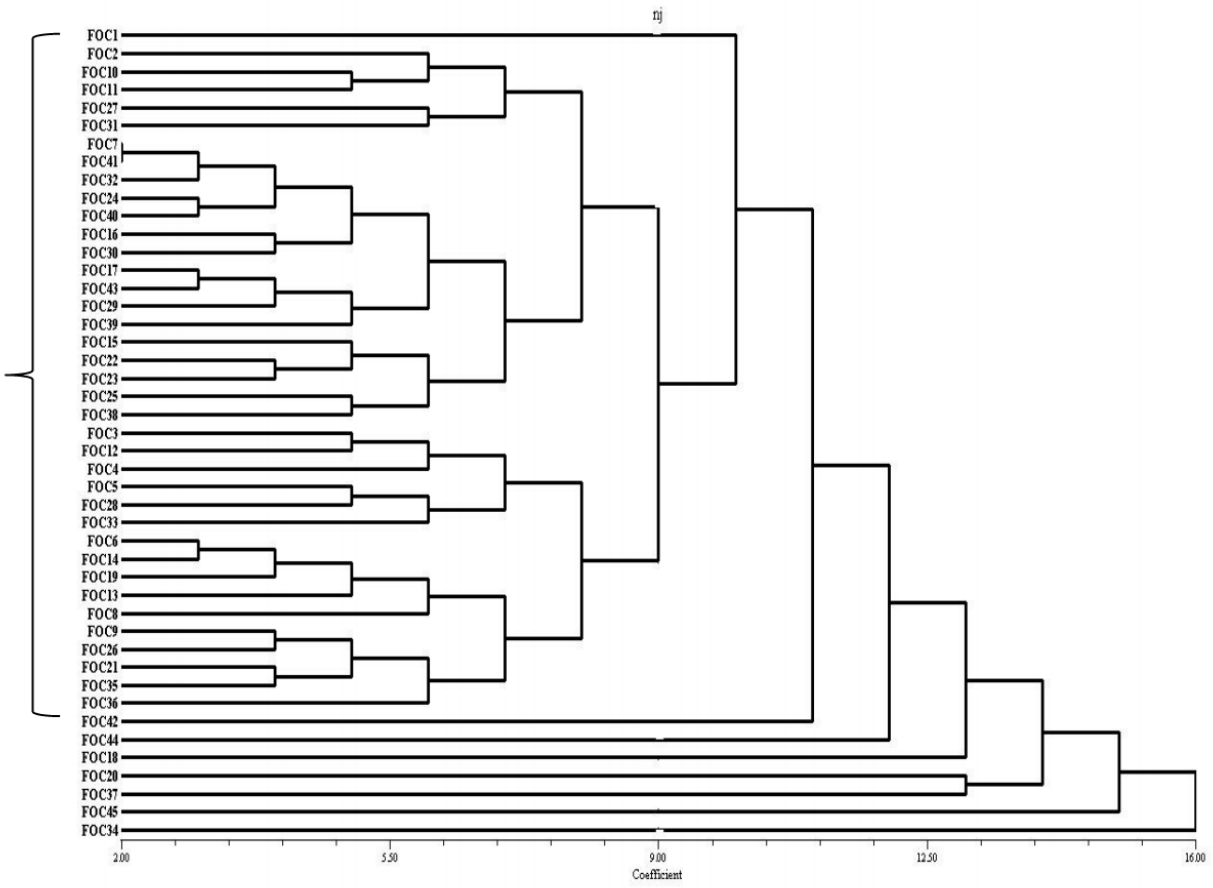
PIC میزان محتوای اطلاعات چندشکلی MI شاخص نشانگر

بیش‌ترین درصد چند شکلی در بین جمعیت‌ها به مقدار ۸۰ درصد به جمعیت درود فرامان تعلق داشت. همچنین جمعیت درودفرامان به‌ترتیب با مقدار ۰/۳۷٦ و ۰/۲٤۰ بیش‌ترین مقدار شاخص اطلاعات شانون و تنوع ژنی را در بین جمعیت‌ها داشته است (جدول۵).

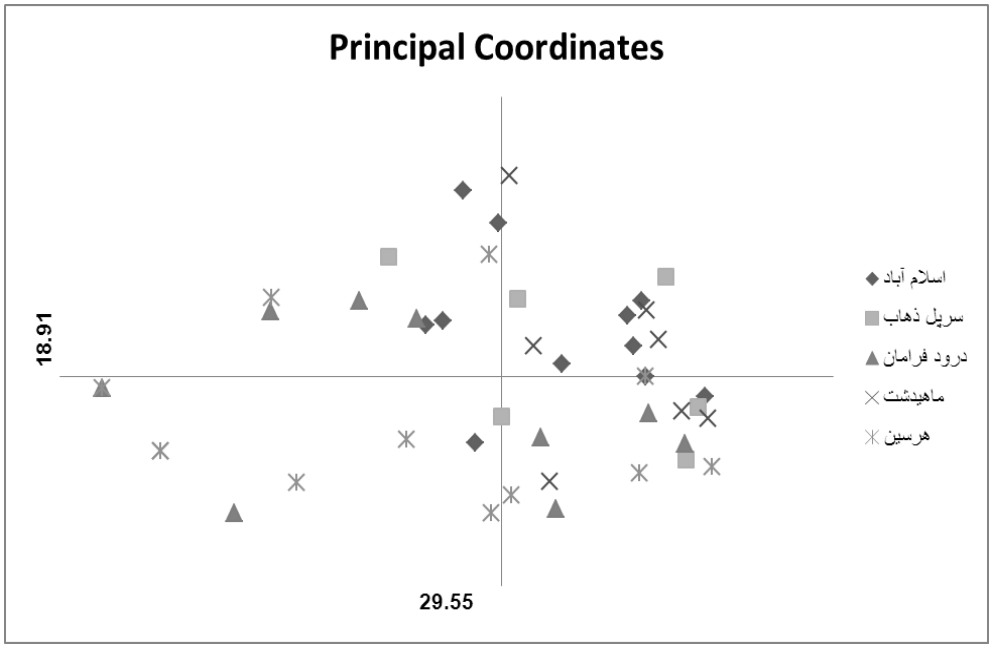
مقایسه دو به دو جمعیت‌ها نشان داد که بیش‌ترین فاصله ژنتیکی (٤۸ درصد) بین جمعیت‌های ماهیدشت با درودفرامان و هرسین با ماهیدشت و کم‌ترین فاصله ژنتیکی (۰/۰۰۷) بین جمعیت‌های هرسین و درودفرامان وجود دارد (جدول٦).

[1] Primer

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.13.2]



شکل ۱- دندروگرام ارتباط ژنتیکی جدایه‌های Foc ایجاد شده به روش الحاق مجاور



شکل۲- نمودار تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بین جدایه‌های Foc

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.13.2]

جدول ۵- اطلاعات تنوع ژنتیکی در جمعیت‌های قارچ Foc بر اساس جایگاه‌های ریزماهواره

جمعیت	درصد چندشکلی جایگاه ژنی	Na[1]	Ne[2]	I[3]	H[4]
اسلام‌آباد	۷۳/۳۳	۱/٤٦۷	۱/۳۲۳	۰/۳٤۹	۰/۲۲۱
سرپل‌ذهاب	۷۳/۳۳	۱/٤٦۷	۱/۳٥٤	۰/۳٦۳	۰/۲۳۳
درود فرامان	۸۰/۰۰	۱/٦	۱/۳٦۳	۰/۳۷٦	۰/۲٤۰
ماهیدشت	٦٦/٦۷	۱/۳۳۳	۱/۳٦۲	۰/۳۳۳	۰/۲۱۹
هرسین	۷۳/۳۳	۱/٤٦۷	۱/۳۷٤	۰/۳٦۸	۰/۲۳۹
میانگین	۷۳/۳۳	۱/٤٦۷	۱/۳٥٥	۰/۳٥۸	۰/۲۳۰

۱- تعداد آلل‌های مشاهده شده ۲-تعداد آلل‌های مؤثر ۳- ضریب اطلاعات شانون ٤- تنوع ژنی

همچنین بر اساس نتایج تجزیه واریانس مولکولی میزان تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌ها (۹۳ درصد) و تنوع بین جمعیت‌های مختلف برابر (۷ درصد) بود که نشان می‌دهد افراد درون جمعیت‌ها از لحاظ ژنتیکی بیشتر از افراد جمعیت‌های مختلف به یکدیگر نزدیک هستند (جدول ۷). تمایز کمتر بین جمعیت نسبت به داخل جمعیت‌ها نشان‌دهنده این است که گروه‌بندی صورت گرفته برای جدایه‌ها در تفکیک جدایه‌ها بر اساس شباهت آن‌ها موفق عمل کرده است و جمعیت‌ها در دندروگرام حاصل، از افراد متفاوتی تشکیل شده‌اند.

بحث

در این تحقیق جهت بررسی تنوع ژنتیکی قارچ عامل بیماری پژمردگی نخود از نشانگر ریزماهواره SSR استفاده شد. مناطق نمونه‌برداری شامل پنج جمعیت منطقه‌ای مختلف بودند. میزان چندشکلی حاصل از نشانگر SSR ۱۰۰ درصد بود. نتایج به دست آمده این تحقیق بیانگر این است که نشانگر SSR نشانگر مناسبی جهت مطالعات تنوع ژنتیکی در جدایه‌های Foc می‌باشد و ما را قادر می‌سازد که جدایه‌های Foc را در سطح مولکولی به گروه‌های مختلف تقسیم کنیم. در این مطالعه تجزیه خوشه‌ای تنوع بالایی در میان جدایه‌ها را نشان داد، جدایه‌های Foc از مناطق جغرافیایی مختلف به گروه‌های ژنتیکی مشخص در دندروگرام تقسیم شده‌اند. در این مطالعه مشخص شده‌است که جدایه‌های بعضی از مناطق دارای تنوع ژنتیکی بالایی هستند، در بین جمعیت‌های مورد مطالعه جمعیت درود فرامان بیش‌ترین تنوع ژنتیکی را نشان داده است. در این مطالعه بیش‌ترین تنوع ژنتیکی در داخل جمعیت‌ها و کم‌ترین در میان جمعیت‌ها شناسایی شد. در این مطالعه جریان ژنی یکی از نیروهای تکاملی است که نقش بسیار مهمی در تنوع ژنتیکی یک جمعیت دارد. در غیاب جریان ژنی، ریزش ژنتیکی باعث تفاوت در فراوانی آلل‌های جایگاه‌های ژنی درون جمعیت‌ها می‌شود و باعث افزایش تمایز جدایه‌ها در جمعیت‌ها می‌شود (McDonald 1997). در بررسی مشابهی که در استان‌های خراسان شمالی و خراسان رضوی برای تعیین تنوع ژنتیکی جدایه‌هایFoc عامل زردی و پژمردگی نخود با استفاده از دو نشانگر PCR-RFLP و RAPD انجام گرفت، نتایج محاسبه فاصله ژنتیکی در نشانگرPCR-RFLP بیانگر عدم وجود رابطه آشکار بین منشاء جغرافیایی جدایه‌ها با گروه‌بندی خوشه‌ای آن‌ها بود (Zokaee et al. 2012).

جدول ٦- فاصله ژنتیکی بین زوج جمعیت‌های Foc

جمعیت	اسلام-آباد	سرپل-ذهاب	درودفرامان	ماهیدشت	هرسین
اسلام‌آباد					
سرپل‌ذهاب	۰/۰۱٦				
درودفرامان	۰/۰۳٥	۰/۰۲۸			
ماهیدشت	۰/۰۲۰	۰/۰۲۰	۰/۰٤۸		
هرسین	۰/۰٤۱	۰/۰۳۸	۰/۰۰۷	۰/۰٤۸	

جدول ۷ - تجزیه واریانس مولکولی برای جمعیت های Foc

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.13.2]

منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	درصد تغییرات
بین جمعیت‌ها	٤	١٧/٨١٧	٤/٤٥٤	٧
داخل جمعیت‌ها	٤٠	١٠٦/٩٨٣	٢/٦٧٥	٩٣
کل	٤٤	١٢٤/٨		١٠٠

در مطالعه دیگری تنوع ژنتیکی جدایه‌های مختلف Foc در استان خراسان، با استفاده از ١٥ آغازگر RAPD، مورد بررسی قرار گرفت و بین منشأ جغرافیایی جدایه‌ها و گروه‌های ژنتیکی، ارتباط محسوسی وجود نداشت، به علاوه، این نشانگر به‌خوبی توانست جدایه‌های بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا را در نخود تفکیک نماید (Zaker Tavallaee 2003). در جمعیت‌های مورد مطالعه در این تحقیق تنوع ژنتیکی پایینی وجود داشت، تنوع ژنتیکی پایین ممکن است در اثر چند عامل ایجاد شود به اینصورت که فاصله جغرافیایی میان جمعیت‌ها زیاد نبوده و در این فاصله کم، با جابجایی بقایای گیاهی آلوده و بذور آلوده بیماری به جمعیت‌ها انتقال می‌یابد، و در اثر انتقال بیماری تنوع ژنتیکی کاهش می یابد مبادله بذر آلوده به این بیماری احتمالاً عمومی‌ترین عامل به حساب می‌آید و بذور نخود آلوده باعث گسترش بیماری و استقرار آلودگی در مزارع می‌شوند. هم‌چنین *F. oxysporium* دارای پایداری بالایی در خاک است و ممکن است به‌صورت جنسی و غیر جنسی تکثیر شود، انتشار فرم‌های جنسی و غیر جنسی قارچ با کمک عملیات زراعی و انتقال بذر به مناطق مختلف باعث توزیع و تغییر فرآوانی آلل‌ها می شود. به‌علاوه بذر آلوده در این بیماری می‌تواند به پایداری قارچ در مناطق جدید کمک کند و ممکن است عامل توزیع و تنوع ژنوتیپ‌ها در آخر فصل رشد در درون جمعیت‌های این بیماری شود. بنابراین یکنواختی ژنتیکی جدایه‌های Foc در بعضی از مناطق جغرافیایی ممکن است ناشی از درجاتی از نوترکیبی جنسی در شرایط مزرعه باشد. در بررسی تنوع ژنتیکی جدایه‌های Foc در هند بر اساس نشانگرهای مولکولی، بین میزان بیماری‌زایی و منطقه جغرافیایی هیچ‌گونه رابطه مستقیمی به‌دست نیامد و جدایه‌ها در دو گروه بیماری‌زا و غیر بیماری‌زا قرار گرفتند، همچنین جدایه‌های بیماری‌زا در شش گروه با تشابه ژنتیکی ٠/٧٧ قرار گرفتند، تنها تفاوت این جدایه‌ها در شدت و قدرت بیماری‌زایی آن‌ها بود (Sharma et al. 2009). در بررسی تنوع ژنتیکی ٥٠ جدایه قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lentis* در هند با استفاده از نشانگر SSR، ٢٦ آلل شناسایی شد (Chehri et al. 2011). در بررسی ٦٤ جدایه *F. oxysporium* با استفاده از ٩ ریزماهواره ٧١ آلل تکثیر شد و میزان محتوی چندشکلی نشانگرها ٠/٢٥ گزارش شد این چندشکلی نشان‌دهنده درجه بالایی از تنوع زیستی است (Bogale et al. 2005). در بررسی تنوع ژنتیکی و ساختار جمعیتی جدایه‌های Foc در ترکیه نشان داده شد که بیش‌ترین تنوع ژنتیکی جدایه‌ها ناشی از تفاوت درون جمعیت است، میزان جریان ژنی (Nm) بالا و برابر ٣/٠٠٩ بود که در اثر جابجایی عامل بیماری بین مناطق آلوده، اتفاق می‌افتد (Bayraktar et al. 2007). بررسی ساختار ژنتیکی جمعیت‌ها در این مطالعه نشان می‌دهد که تنوع درون جمعیت‌ها بیش‌تر از میان جمعیت‌هاست. با تخمین جریان ژنی، می‌توان میزان جریان ژنی که از تمایز جمعیت‌ها جلوگیری می‌کند را مشخص کرد. زمانی‌که جریان ژنی کمتر از یک باشد نشان می‌دهد که تمایز در میان جمعیت‌ها وجود دارد و جریان ژنی بیشتر از یک نشان می‌دهد که تمایز کمتری در میان جمعیت‌ها رخ می‌دهد. تعیین مشخصات ژنتیکی بیمارگرهای گیاهی برای توسعه بهترین روش‌های مدیریت بیماری‌های گیاهی لازم و ضروری است. اصلاح ارقام مقاوم یکی از مهم‌ترین روش‌های کنترل بیماری پژمردگی نخود است. برای بررسی روش‌های کنترل و تأثیر آن‌ها دانستن اطلاعات تنوع ژنتیکی جمعیت بیمارگر بسیار مهم و حائز اهمیت است. در همین راستا تنوع ژنتیکی Foc توسط نشانگر SSR مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه بینش ما نسبت به تنوع ژنتیکی در میان جدایه‌های Foc افزایش یافته است و بررسی‌های بیش‌تر این قارچ با تکنیک‌های مولکولی در بدست آوردن اطلاعات بیش‌تری در مورد ساختار ژنتیکی این قارچ می‌تواند مفید باشد. در این مطالعه تنوع ژنتیکی بالایی در بین جدایه‌ها مشاهده شد و این نشان دهنده این است که پتانسیل ایجاد خسارت در مزارع نخود وجود دارد. افزایش تنوع ژنتیکی جدایه‌ها در هر منطقه باعث افزایش پتانسیل سازگاری آن جدایه‌ها در مقابل تغییرات شرایط محیطی و روش‌های کنترل می‌شود. این تنوع بالا به اصلاح کنندگان کمک می‌کند که واریته‌هایی که دارای پتانسیل مقاومت هستند را مطابق با تنوع ژنتیکی قارچ برای رسیدن به ارقام با مقاومت پایدار آزمایش کنند. هم‌چنین اقدامات

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.13.2]

و مقررات قرنطینه‌ای برای جلوگیری از ورود جدایه‌های با تنوع بالا از مناطق دیگر به مناطق دارای جدایه‌های با تنوع کم‌تر را به‌طور جدی در نظر بگیرند. با توجه به شیوع این بیماری در بسیاری از مناطق کشت نخود در کشور پیشنهاد می‌شود که مطالعات تعیین تنوع ژنتیکی قارچ Foc در سطح وسیع در کشور انجام گیرد تا بتوان با تحقیقات کاربردی و هدفدار از قبیل تشخیص تنوع ژنتیکی عامل بیماری، کاربرد ژن‌های مقاوم یا مخلوطی از واریته‌ها برای کنترل پایدار در مدیریت بیماری در جهت افزایش عملکرد این محصول با ارزش اقدام شود. همچنین لازم است که تحقیقات دیگری در زمینه‌های مختلف بیولوژی و اپیدمیولوژی این بیماری صورت گیرد.

منابع

Barve MP, Haware MP, Sainani MN, Ranjekar PK, Gupta VS (2001) Potential of microsatellites to distinguish four races of *Fusarium oxysporum* f. sp. ciceri prevalent in India. Theoretical and Applied Genetics 102:138-147.

Bayraktar H, Dolar FS, Maden S (2007) Use of RAPD and ISSR Markers in Detection of Genetic Variation and Population Structure among *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* Isolates on Chickpea in Turkey. Phytopathology Journal 156:146-154.

Behdad A (2010) Principles of plant diseases. Neshat Press, Esfehan, Iran. (In Farsi).

Bogale M, Wingfield BD, Wingfield MJ, Steenkamp EJ (2005) Simple sequence repeat markers for species in the *Fusarium oxysporum* complex. Molecular Ecology Note 5: 622-624.

Chakrabarti A, Mukherjee PK, Sherkhane PD, Bhagwat AS, Murthy NBK (2001) A simple and rapid molecular method for distinguishing between races of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* from India. Current Science, 4: 571-575.

Chehri KSB, Yli Mattila T, Reddy KRN, Abbasi S (2011) Molecular characterization of pathogenic Fusarium species in cucurbit plants from Kermanshah province. Saudi Journal of Biological Sciences, 18: 341.

Datta J, Lal N (2013) Genetic diversity of Fusarium wilt races of pigeonpea in major regions of India. African Crop Science Journal 21: 20-211.

Doyle JJ, Doyle JL (1990) A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. Focus 12: 13.

Dubey SC, Suresh M, Singh B (2007) Evaluation of Trichoderma species against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* for integrated management of chickpea wilt. Biological Control 40: 118-127.

FAO (2014) FAOSTAT. Food and Agricultural commodities production. Available at http://www.faostat.fao.Org.

Gurjar G, Barve M, Giri A, Gupta V (2009) Identification of Indian pathogenic races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* with gene specific, ITS and random markers. Mycologia 101: 484-495.

Halila MH, Strange RN (1996) Identification of the causal agent of wilt of chickpea in Tunisia as *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* race 0. Phytopathologia Mediterrania 35: 67-74.

Haware MP, Nene YL, Mathur SB (1986a) Seed borne diseases of chickpea. Technical Bulletin 1. Danish Government Institute of Seed Technology for developing countries. Copenhagen 1: 1-32.

Haware MP, Nene YL, Natrajan M (1986b) Survival of *Fusarium oxysporium* f. sp. *ciceri* in soil in absence of chickpea. Paper presented in the National Seminar on Management of soil borne diseases of crop plants Proc. Natn. Sem. 8-10 Jan. 1986, Tamilnadu Agricultural University, Coimbatore, Tamilnadu India.

Jalali BL, Chand H (1992) Chickpea wilt. pp. 420-444 in: Plant diseases of International Importance. Vol.1. Diseases of cereals and pulses. U.S. singh, Mukhopadhayay AN, Kumar J, Chaube HS, eds. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ.

Jime´nez-Dı´az RM, Alcala´-Jime´nez AA, Herva´s A, Trapero-Casas JL (1993) Pathogenic variability and host resistance in the *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*/ *Cicer arietinum* pathosystem. In: Third European Fusarium Seminar: Fusarium Mycotoxins, Taxonomy, Pathogenicity and Host Resistance. Radziko´v, Poland: Hodowla Ro´slin Aklimatyzacja I Nasieennictwo, Plant Breeding and Acclimatization Institute, 87-94.

Jime´nez-Gasco MM, Jime´nez-Diaz RM (2003) Development of a specific polymerase chain reaction-based assay for the identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* and its pathogenic races 0, 1A, 5 and 6. Phytopathology 93: 200-209.

Jime´nez-Gasco MM, Milgroom MG, Jime´nez-Diaz RM (2002) Gene genalogies support *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* as a monophyletic group. Plant Pathology 51:72-77.

Jiménez-Gasco MM, Milgroom MG, Jiménez-Díaz RM (2004) Stepwise evolution of races in *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* inferred from fingerprinting with repetitive DNA sequences. Phytopathology 94: 228-235.

Jime´nez-Gasco MM, Pe´rez-Arte´s E, Jime´nez-Diaz RM (2001) Identification of pathogenic races 0, 1B/C, 5, and 6 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* with random amplified polymorphic DNA (RAPD). European Journal of Plant Pathology 107: 237-248.

Kelly A, Alcala-Jimnez AR, Bainbridge BW, Heale JB, Perez-Artes E, Jimnez-Diaz RM (1994) Use of genetic fingerprinting and random amplified polymorphic DNA to characterize pathotypes of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* infecting chickpea. Phytopathology 84: 1293-1298.

Kumar M, Mishra GP, Singh R, Kumar J, Naik PK, Singh SB (2009) Correspondence of ISSR and RAPD markers for comparative analysis of genetic diversity among

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.13.2]

different apricot genotypes from cold arid deserts of trans-Himalayas. Physiology and Molecular Biology of Plants 15: 225-236

Leslie JF, Summerell BA (2006) The fusarium laboratory manual. Iowa: Ames.

Mcdonald BA (1997) The population genetics of fungi. Tools and techniques. Symposium on population genetics of soil borne fungal Plant Pathogens. Phytopathology 87: 448-453.

Meyer W, Castaneda A, Jackson S, Huynh M, Castaneda E (2003) The Ibero American cryptococcal study group. Molecular typing of Ibero American *Cryptococcus neoformans* isolates. Emerging Infectious Diseases 9: 189-195.

Mohammadi SA, Prasanna BM (2003) Analysis of genetic diversity in crop plant: Salien statistical tools and considerations. Crop Science 43: 1248-1235.

Navas-Cortes JA, Hau B, Jime´nez-Dı´az RM (2000) Yield loss in chickpeas in relation to development of Fusarium wilt epidemics. Phytopathology 90: 1269–1278.

Nene YL, Reddy MV (1987) Chickpea diseases and their control. In: Saxena MC, Singh KB, editors. The Chickpea. Oxon, UK. CAB-International, 233-270.

Peakall R, Smouse PE (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. Bioinformatics 28: 2537-2539.

Pe´rez-Arte´s E, Roncero MIG, Jime´nez-Diaz RM (1995) Restriction fragment length polymorphism analysis of the mitochondrial DNA of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*. Journal of Phytopathology 143:105-109.

Rohlf FJ (1998) NTSYS-pc Numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.02. Exeter Software. Setauket.

Sharma M, Varshney KR, Rao JN, Kannan S, Hoisington D, Pande S (2009) Genetic diversity in Indian isolates of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris*, chickpea wilt pathogen. African Journal of Biotechnology 8: 1016-1023.

Singh BP, Ratul Saikia R, Yadav M, Singh R, Chauhan VS Arora DK (2006) Molecular characterization of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceri* causing wilt of chickpea .African Journal of Biotechnology 5: 497-502.

Sivaramakrishnan S, Kannan S, Singh SD (2003) Genetic variability of Fusarium wilt pathogen isolates of chickpea (*Cicer arietinum* L.) assessed by molecular markers. Mycopathologia 155:171-178.

Zaker Tavallaee F (2003) Genetic diversity determination of vascular *Fusarium oxysporum* isolates in chickpea by RAPD molecular marker. Dissertation, University of Ferodissi Mashhad, Iran. (In Farsi).

Zokaee S, Falahati Rastegar M, Jafar Poor B, Bagheri A, Jahanbakhsh Mashhadi V (2012) Genetic diversity determination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Ciceri* the causal agent of wilting and chlorosis in chickpea by using RAPD and PCR-RFLP techniques in Razavi and Northern Khorasan Provinces. Iranian Journal of Pulses Research 2: 7-16. (In Farsi).

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1395.11.4.13.2]