پوسیدگی فیتوفتورایی ریشه و طوقه تعدادی از گیاهان زراعی و باغی منطقه گرگان*

PHYTOPHTHORA ROOT AND CROWN ROT OF SEVERAL FIELD AND ORCHARD CROPS IN GORGAN AREA

مهدیه طاهری[۱]، منصوره میرابوالفتحی[۲]** و کامران رهنما[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۶/۲۰؛ تاریخ پذیرش:۱۳۹۰/۱۲/۱۷)

چکیده

در سال‌های ۸۹-۱۳۸۸ از مزارع کشت آبی، نهالستان‌ها و باغ‌های مختلف منطقهٔ گرگان در استان گلستان بازدید و از گیاهان بیمار با علایم مرگ گیاهچه، پوسیدگی ریشه و طوقه، بوته میری و پوسیدگی میوه نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها پس از شستشو و ضدعفونی سطحی، در محیط کشت نیمه انتخابی جداسازی فیتوفتورا (CMA+PARPH) کشت شد. تشخیص گونه‌ها با ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیک، و براساس کلیدهای شناسایی معتبر برای تشخیص این جنس و هم‌چنین توالی نوکلئوتیدی ناحیه ITS دی-ان- ا ریبوزومی انجام گرفت. تعداد ۵۰ جدایه از جنس فیتوفتورا شامل گونه‌های *Phytophthora palmivora* ، *P. cryptogea* گروه II ، *P. citrophthora*، *P. nicotianae* و *P. inundata* جداسازی و بیماری‌زایی گونه‌ها روی میزبان‌های مربوطه به اثبات رسید. گزارش بیماری‌های: پوسیدگی فیتوفتورایی ریشه و طوقه زیتون با عامل، *P. palmivora* ،پوسیدگی ریشه نهال‌های کیوی، سیب‌زمینی و ژربرا با عامل *P. cryptogea* گروه II و پوسیدگی ریشه و طوقه باقلا با عامل *P. inundata* برای ایران جدید است.

واژه‌های کلیدی: پوسیدگی ریشه و طوقه، *P. citrophthora* ، *P. cryptogea* group II ، *P. palmivora* ، *P. nicotianae* ، *P. inundata*, منطقهٔ گرگان ، *Diospyros kaki* ،*Lycopersicum esculentum* ،*Vicia faba* ،*Gerbera jamesonii* ،*Olea europae* ،*Solanum tuberosum* و *Actinidia chinensis* .

*: بخشی از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد نگارنده اول ارایه شده به دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

**: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mmirab2000@yahoo.com

۱. به‌ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد و دانشیار گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۲. دانشیار پژوهشی، مؤسسهٔ تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

جنس فیتوفتورا بیش از ۹۰ گونهٔ مورفولوژیک دارد و از این لحاظ که تمام گونه‌های آن به استثنای گونه آبزی و پوده زی *Phytophthora gonapodyides* (Petersen) Buisman بیمارگرهای گیاهان عالی هستند، در میان بیمارگرهای غیراجباری گیاهان از وضعیتی منحصر بفرد برخوردار است (Brasier 2009). فیتوفتوراها بسته به گونه آنها قادرند در تمام مراحل رشد گیاهان ایجاد بیماری کنند و از مرحله گیاهچه، حتی بذر جوانه زده تا درختان کهن‌سال را مورد حمله قرارداده و بیمار کنند. علاوه بر این حمله آنها به عضو یا اعضای خاصی از گیاهان میزبان صورت نمی‌گیرد، بلکه قادرند اعضاء مختلف از قبیل برگ، گل، میوه، ساقه، شاخه، تنه، ریشه و غده را آلوده سازند، هم‌چنین تمام گونه‌ها همه اعضای نامبرده را بیمار نمی‌کنند بلکه بسته به گونه و شرایط جوی یک یا چند عضو را بیمار می‌کنند. درحالی‌که اغلب گونه‌ها به گیاهان بیشماری حمله‌ور می‌شوند، به عنوان مثال می‌توان *P. cactorum* را نام برد که قادر است به ۱۵۰ جنس از ۵۴ تیره گیاهان خسارت وارد آورد، گونه‌هایی مانند *P. infestans* دارای میزبان‌های اختصاصی بوده و فقط تعدادی گیاه شبیه بهم را بیمار می‌کنند (Ershad 1992).

گونه‌های فیتوفتورا در اثر حمله به گیاه علایمی مانند مرگ گیاهچه، سوختگی اندام‌های هوایی، پوسیدگی میوه، ساقه، طوقه و ریشه ایجاد کرده و در اکثر موارد منجر به مرگ میزبان می‌شوند. عامل این بیماری‌ها خاکزاد بوده و کنترل آن به دلیل طیف میزبانی وسیع و بقای طولانی در خاک مشکل می‌باشد (Erwin & Ribeiro 1996). استان گلستان دارای سطح زیر کشت ۷۰۴۹۳۴ هکتار و تولید ۲۷۱۳۳۱۰ تن محصول گیاهان زراعی و ۱۷۷۸۶۴ تن محصول گیاهان باغی می‌باشد. منطقهٔ گرگان با سطح زیر کشت ۶۱۸۲۸ هکتار سهم مهمی در اقتصاد این استان دارد (Agriculture Jehad Ministry 2009). تاکنون از منطقهٔ گرگان گونه‌های *P. nicotianae* از سرو نقره‌ای و انواع کاج، *P. cryotogea*، *P. nicotianae*، *P. drechsleri* و *P. sojae* از سویا و *P. nicotianae* و *P. melonis* از هندوانه گزارش شده است (Mirabolfathy *et al.* 1998, Mirabolfathy & Ershad 1996, Nasrollahnejad 2004). تا قبل از این تحقیق مطالعه مستقلی در زمینه شناسایی گونه‌های فیتوفتورا، میزبان‌ها و مناطق پراکنش آنها در این منطقه صورت نگرفته بود و از اهداف این تحقیق بود. گونه *Phytophthora citrophthora* (Smith and Smith) Leonian اولین بار توسط اسمیت و اسمیت (Smith & Smith 1906) از لیمو ترش‌های پوسیده جدا و تحت نام *Pythiacystis citrophthora* نام‌گذاری شد، سپس این‌گونه نه فقط به عنوان عامل اصلی بیماری‌زای مرکبات بلکه به عنوان عامل پوسیدگی قهوه‌ای میوه، انگومک و پوسیدگی ریشه و طوقه بقیه محصولات نیز شناسایی شد.

بعدها این‌گونه به عنوان عامل پوسیدگی میوه خربزه از آمریکا (Tompkins & Tucker 1937)، پوسیدگی قهوه‌ای میوه خرمالو و نکروز برگ انجیر از آرژانتین (Frezzi 1950)، پوسیدگی ریشه کیوی از شیلی (Latorre *et al.* 1991) و بسیاری از درختان میوه شامل سیب، گلابی، گیلاس، بادام، آلو، زردآلو و هلو از بسیاری نقاط جهان گزارش شده است (Erwin & Ribeiro 1996). بیماری پوسیدگی لکه قهوه‌ای خرمالو از تنکابن توسط ارشاد گزارش شده است (Ershad 1971). این گونه تاکنون در ایران از پسته، کیوی، مرکبات، انار، فلفل، گردو، سرو، سیب‌زمینی و بسیاری دیگر از محصولات گزارش شده است (Ershad 2009).

Archive of SID

www.SID.ir

گونـه *Phytophthora cryptogea* Pethybridge and Lafferty اولین بار بـه عنـوان عامـل پوسـیدگی طوقـه گوجه‌فرنگی در ایرلنـد توسـط پتـی بـریج و لافرتـی (۱۹۱۹) توصیف شد. این گونه امروزه به عنوان بیمـارگر مهـم گیاهـان زینتی به خصوص آنهایی که در گلخانه یـا در زیـر پلاسـتیک رشد می‌کنند و بـسیاری درختـان مثمـر و غیرمثمـر در سـرتا سـر جهـان شـناخته شـده اسـت (Erwin & Ribeiro 1996). دامنه میزبانی این گونه بسیار وسـیع و بـالغ بـر ۲۳ تیـره گیـاهی را شـامل مـی‌شـود و تـاکنون از چنـدین کـشور جهان جداسازی شده است. *P. cryptogea* در ایـران از ژربـرا، سـویا، پـسته، بـادام، خربـزه، گوجـه‌فرنگـی، گلرنگ، چغندر، چنار،گلابی، سوزنی برگان، گیلاس، گـل مینـا و گـشنیز جداسـازی شـده اسـت (Ershad 2009). این گونه به عنوان عامل پوسیدگی طوقه و ریـشه کیـوی از فرانـسه توسـط (Baurdy *et al*. 1991) و از شـیلی توسـط (Latorre *et al*. 1996)، از نیوزلنـد توسـط (Stewart & Carrison 2008)، از ژربرا در ایتالیا توسط (Minerdi *et al*. 2008)، از گل اطلسی در شیلی توسـط (Ampuero *et al*. 2008)، از شاه بلوط در یونان توسط (Perlerou *et al*. 2010) گزارش شده است.

گونه*Phytophthora nicotianae* Breda de Haan ابتدا از توتون توسط *بـردا دوهـان* (Berda de Haan 1882) از جـاوه و سـوماترا جداسـازی گردیـد ولـی بـه‌طـور کـافی توصیف نشد. سپس *داستر* (Dastur 1913) جدایـه دیگـری از کرچـک در هنـد، جداسـازی و بـا نـام *P. parasitica* توصیف نمـود (Erwin & Ribeiro 1996). ایـن گونـه هم‌چنین از گوجه‌فرنگی در آمریکا توسط *لامور و همکاران* (Lamour *et al*. 2003)، از کره توسط *هیوک و همکاران* (Hyeuk-Jin *et al*. 2007) از فلفـل در اسـپانیا توسـط *آندرس و همکاران* (Andres *et al*. 2003)، از زیتون در آرژانتین توسط *وترینو و همکاران* (Vettraino *et al*. 2009) و از سوسـن در شـیلی توسـط *یانـگ و همکـاران* (Yang *et al*. 2010) گزارش شده است. *P.nicotianae* با ایجاد بیمـاری‌هـایی نظیـر مـرگ گیاهچـه، سـوختگی اندام‌های هوایی، شانکر ساقه و پوسیدگی ریشه و طوقـه، در بیش از ۳۰۰ گونه گیاهی در اغلب نقاط دنیا منجر بـه خسارت می‌شود. این گونه تاکنون در ایران از بسیاری از گیاهـان تیـره *Solanaceae* ماننـد سـیب‌زمینـی و گوجه‌فرنگی و هم‌چنین از مرکبات، زردآلو، سـویا، گنـدم، پسته، چغندر، گیاهان زینتی، خیار و فلفل جداسازی شـده است (Ershad 2009).

گونه *Phytophthora palmivora* Butler بیمارگری با دامنه میزبانی وسیع در سراسر جهان می‌باشد. این قـارچ اولین بار در سال ۱۸۹۹ توسط Massee به عامل بیمـاری black pod کاکائو با نام *P. omnivora* نسبت داده شد و بعدها در سال ۱۹۱۹ توسـط Butler بـه *P. palmivora* تغییر نام پیدا کرد (Erwin & Ribeiro 1996). این گونه در ایران از شمعدانی، اطلسی، درختچه‌های تـرون، ارغـوان و لوبیـا جداسـازی شـده اسـت (Ershad 2009) و روی نهـال‌هـای زیتـون از اسـپانیا توسـط *سـانچز و همکـاران* (Sanchez- Hernandez *et al*. 1997)، از ایتالیـا توسـط *کاسـی‌اولا و همکـاران* (Cacciola *et al*. 2000)، از آرژانتین توسط *لوسرو و همکـاران* (Lucero *et al*. 2006) ، اسـطوخودوس از ایتالیـا توسـط *داوینـو و همکـاران* (Davino *et al*. 2002)، یک نوع گیاه زینتـی از آمریکـا توسط استرانبرگ (Strandberg 2003) و درخت خرما از ایتالیـا توسـط *پانـه و همکـاران* (Pane *et al*. 2007) جداسازی و گزارش شـده اسـت. گونـهٔ *Phytophthora inundata* Brasier یک گونه تکاملی است که به تازگی توصیف شده است. تشخیص جدایه‌های این گونه به دلیل

Archive of SID

www.SID.ir

صفات مشابه آن با سایر گونه‌های بدون پاپیل و گرما دوست، تنها براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی غیرممکن است (Brasier *et al.* 2003). جدایه‌هایی از این گونه از چغندرقند و بادنجان از فارس توسط *مستوفی پور قلمفرسا و همکاران* (Mostoweizadeh-Ghalamfarsa *et al.* 2010)گزارش شده است.

روش بررسی

نمونه‌برداری و جداسازی

مزارع آبی زراعت‌های مختلف منطقهٔ گرگان ، طی فصول رشد سال‌های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ مورد بازدید قرار گرفت و از گیاهان بیمار با علایم مرگ گیاهچه، پوسیدگی طوقه و ریشه و بوته میری ناگهانی نمونه‌برداری شد. نسوج گیاهی در کیسه‌های پلاستیکی قرار داده شدند و به آزمایشگاه منتقل و در اسرع وقت کشت شد. بدین منظور ابتدا، نسوج آلوده طوقه و ریشه به مدت ۲۰ الی ۳۰ دقیقه در جریان ملایم آب شستشو داده شد. سپس قطعات حدود پنج میلی‌متری از حد فاصل بافت آلوده و سالم بریده شده، بدون ضدعفونی و یا پس از انجام ضدعفونی سطحی توسط محلول هیپوکلریت ۰/۵ درصد، چندبار در آب مقطر سترون شستشو و سپس روی کاغذ صافی سترون خشک و در محیط کشت آرد ذرت آگار (CMA) و یا CMA + PARPH (شامل ۲۰ میلی‌گرم ریفامپیسین، ۱۲ میلی‌گرم پیماریسین، ۴۰ میلی‌گرم همیکسازول، ۱۲۰ میلی‌گرم پنتا کلرو نیترو بنزن و ۲۰۰میلی‌گرم آمپی سیلین در هر لیتر محیط کشت CMA) کشت شد. تشتک‌های پتری در دمای ۲۵ °C نگهداری و پس از مشاهده روئیده قارچ، قطعاتی از آن به محیط آب آگار (WA) دو درصد منتقل و به روش کشت نوک ریسه خالص‌سازی شد. پس از تعیین گونه هر گروه از جدایه‌ها تعدادی از هر گروه به عنوان نماینده برای مطالعات مورفولوژی و مولکولی انتخاب شد(جدول۱).

شناسایی

بررسی خصوصیات ریسه بعد از کشت عامل بیماری در محیط کشت آرد ذرت آگار و نگهداری در دمای ۲۴ °C و در تناوب نوری به مدت ۲۴ ساعت انجام شد (Erwin & Ribeiro 1996). به منظور تولید اسپورانژیوم مقداری بذر شاهدانه را به مدت ۵ دقیقه در آب جوشانده و پس از خنک شدن تعدادی (۱۵ تا ۲۰ عدد) از آنها روی کشت جوان قارچ منتقل شد. پس از کلونیزه شدن بذور توسط قارچ آنها به تشتک پتری حاوی ۱۰ تا ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر سترون منتقل شد. در برخی از جدایه‌ها که درون آب مقطر اسپورانژیوم تولید نکردند محلول استفاده شده با محلول پتری (آب مقطر، Ca (NO3)۲ + ۴ H2 O، Mg SO4 + 7H2O، KH2 PO4، KCl) و یا عصاره خاک تعویض شد. اسپرانژیوم‌ها بعد از یک الی سه روز در شرایط آزمایشگاه به تعداد فراوان تشکیل شد. ابعاد یکصد اسپرانژیوم هر جدایه منتخب اندازه‌گیری وخصوصیات مورفولوژیک آن مورد بررسی قرار گرفت (Cooke *et al.* 2007). در تمامی گونه‌ها به دلیل هتروتالیک بودن برای تولید اندام‌های جنسی، دیسک‌هایی از جدایه‌های مختلف یک گونه به صورت دوتایی و مقابل هم در تشتک پتری حاوی محیط کشت لوبیا آگار باضافه تریپتوفان ۲۰ میلی‌گرم در لیتر، تیامین یک میلی‌گرم در لیتر و بتا سیتوسترول ۳۰ میلی‌گرم در لیتر کشت شده، و به مدت سه الی چهار هفته در دمای ۱۸ الی ۲۲ °C و تاریکی نگهداری شد (Chee & Klure 1976). خصوصیات پرگنه، با کشت بیمارگر در محیط کشت سیب‌زمینی

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۱. مشخصات جدایه‌های منتخب مورد بررسی از هر گروه

Table 1. Characteristics of selected isolates from each group

شماره جدایه Number of isolate	گیاه میزبان host	منطقه جداسازی location	محل جداسازی tissue	تارخ نمونه‌برداری date of sampling	گونه species
Pe.2.10 Pe.2.11	persimmon	Fazelabad vicinity of Gorgan	fruit	88/9/20	*P. citrophthora*
Fb.2.10 Fb.2.11	broadbean	Toskestan Jelinsofla	root and crown	88/12/18	*P. inundata*
Ki.2.10 Ki.2.11	kiwi	Sorkhankalate Kordkoy	root and crown	88/6/4	*P. cryptogea*
Po.2.10 Po.2.11 Po.2.12	potato	Toskestan Jelinsofla Masoumabad	root and stem	89/2/20	
Ge.2.10	gerbera	Sorkhankalate Karimabad	root and leaf	88/6/4	
To.2.10 To.2.11 To.2.12 To.2.13 To.2.14	tomato	Hashemabad Hasanabad Miyanabad Nodemalek Kordkoy	root and crown	88/4/2 88/6/12	*P. nicotianae*
Ol.2.10 Ol.2.11 Ol.2.12	olive	Nodijeh	root,stem and crown	88/3/10	*P. palmivora*

دکستروز آگار(PDA) و نگهداری آن در دمای C ° ۲۵و تاریکی به مدت یک هفته مورد بررسی قرار گرفت (Kuan & Erwin 1980). برای تعیین اثر دما در رشد رویشی جدایه‌ها، قطعه‌ای به قطر پنج میلی‌متر از میسلیوم جوان بیمارگر در مرکز هر تشتک پتری محتوی محیط کشت آرد ذرت آگار قرا ر داده شده و پس از ۲۴ ساعت و مشخص شدن رشد اولیه به دمای مورد نظر انتقال داده شد. تعداد تشتک‌های پتری در هر دمای مورد آزمایش سه عدد برای هر جدایه بود. رشد قطری پرگنه‌ها از دمای ۵ الی ۳۵ به فواصل ۵ درجه سانتی‌گراد، پس از سه روز اندازه‌گیری گردید (Conn *et al*. 1991). تشخیص گونه‌های فیتوفترا براساس بررسی و مقایسه خصوصیات مورفولوژیک و پاره‌ای ویژگی‌های فیزیولوژیک با استفاده از توصیف *اروین و ریبرو* (Erwin & Ribeiro 1996) و بررسی توالی نوکلئوتیدی ناحیه ITS د- ان- ا ریبوزومی آنها صورت گرفت.

بررسی توالی نوکلئوتیدی د- ان- ا ریبوزومی جدایه‌ها

تهیه توده میسلیومی از جدایه‌ها، استخراج د- ان- ا، آغازگرها و تعیین توالی مطابق روش (Mirabolfathy *et al*. 2001) و در مؤسسهٔ جیمز همتون اسکاتلند انجام شد.

Archive of SID

www.SID.ir

اثبات بیماری‌زایی

جهت انجام آزمون بیماری‌زایی از سه روش آزمون‌های گلخانه‌ای و آزمایشگاهی استفاده شد. بدین منظور ابتدا بذر گیاهان میزبان به مدت سه الی پنج دقیقه بسته به اندازه بذر، توسط هیپوکلریت سدیم دو درصد ضدعفونی شده، سپس در گلدان‌های حاوی خاک سترون کشت و در شرایط گلخانه نگهداری شد.

استفاده از نهال

هنگام مایه‌زنی مقدار کمی از خاک اطراف طوقه کنار زده شد و پس از ضدعفونی نسوج طوقه با پنبه آغشته به الکل، با یک اسکالپل تمیز و ضدعفونی شده، برشی نازک در پوست این ناحیه ایجاد و پس از گذاشتن یک دیسک آگار حاوی مایهٔ آلوده کنندهٔ قارچ در این ناحیه، پوست را به حالت اولیه برگردانده و روی آن با پارافیلم پوشانده شد. در نهال‌های شاهد به جای مایه، تنها از دیسک آگار استفاده شد. این روش برای نهال‌های زیتون و کیوی استفاده شد (Erwin & Ribeiro 1996).

مایه‌زنی خاک اطراف طوقه و منطقهٔ توسعهٔ ریشه

برای تهیهٔ مایه قارچ، از محیط عصاره شاهدانه و ورمی کولیت استفاده شد. برای انجام این آزمون ابتدا در ارلن‌های ۲۰۰ میلی‌لیتری ورمی کولیت ریخته شد و به آن ۱۲۰ میلی‌لیتر عصاره شاهدانه اضافه شد و به مدت یک ساعت در اتوکلاو سترون گردید. دو تا سه روز بعد از آن، از پرگنه‌های گونه‌های جدا شده هشت بلوک میسیلیومی به قطر شش میلی‌متر به فلاسک‌ها اضافه شد. این فلاسک‌ها در شرایط محیط آزمایشگاه به مدت ۷ الی ۱۰ روز نگهداری شد و در این مدت هر روز یک‌بار محتویات ارلن به‌طور دستی بهم زده می‌شد. پس از این مدت با کنار زدن مقداری از خاک اطراف طوقه در محل طوقه و ریشه‌های گیاهچه‌ها و نهال‌ها مقدار ۱۰- ۵ گرم از زادمایه آلوده‌کننده کنار هر گیاه ریخته شد، و سپس گلدان‌ها از آب اشباع گردیدند. این گلدان‌ها هر روز به‌طور مرتب آبیاری شده و زیر گلدان‌ها نیز جهت ایجاد شرایط مساعد از آب پر گردیدند (Esmailishirazifard & Banihashemi 2008).

استفاده از شاخه‌های بریده

بدین منظور شاخه‌های حداکثر دو ساله، به قطر یک الی دو سانتی‌متر انتخاب و به قطعات ۲۰ سانتی‌متری بریده شدند که پس از انتقال به آزمایشگاه ابتدا به مدت ۵ دقیقه با الکل ۷۵ درصد ضدعفونی و پس از سه بار شستشو با آب مقطر سترون جهت خشک شدن روی کاغذ صافی سترون انتقال داده شدند. برای انجام آزمون بیماری‌زایی روی این شاخه‌ها از محیط کشت حاوی ریسه‌های سه روزهٔ فعال هر یک از گونه‌ها استفاده گردید به‌طوری‌که ابتدا به‌وسیله corkborer، قطعهٔ مناسبی از پوست وسط شاخه برداشته شده و پس از گذاشتن مقدار کافی از آگار محتوی زادمایه، پوست مجدداً به جای قبلی خود برگردانده شده و سپس محل مذکور با پارافیلم پوشانده شد. این شاخه‌ها قبل از انتقال به انکوباتور به تعداد ۴ تکرار برای هر گونه داخل کیسه پلاستیک‌های سترون شده از جنس سلوفان قرار داده شد و جهت تأمین رطوبت از پنبه سترون شده مرطوب استفاده گردید و پس از بستن درب کیسه‌ها، به مدت ۱۰ روز در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و در نهایت پس از این مدت با پوست‌برداری، سطوح پیشروی مربوط به هرگونه اندازه‌گیری گردید. تعدادی سر شاخه نیز با مایه‌زنی با محیط کشت بدون

Archive of SID

www.SID.ir

قارچ به عنوان شاهد آزمایش مایه‌زنی شد (Afek *et al*. 1990).

نتیجه و بحث

در اجرای این تحقیق با توجه به مشاهده علائم بیماری ناشی از گونه‌های فیتوفتورا، از مزارع گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی، باقلا ونهالستان‌ها و باغ‌های زیتون، کیوی و خرمالو بازدید شد و براساس روش تحقیق جدایه‌های *Phytophthora* به شرح جدول ۱ جداسازی شد.

شناسایی علایم و جداسازی

پوسیدگی ریشه و طوقه باقلا

نشانه‌های بیماری به صورت پژمردگی و خشک شدن بوته‌های باقلا و پوسیدگی قهوه‌ای تیره تا سیاه رنگ طوقه و ریشه در مزارع باقلای منطقه توسکستان و جلین سفلی گرگان مشاهده شد. گیاهان آلوده به‌خصوص بعد از یک آبیاری غرقابی اغلب پژمرده و خشک می‌شدند. گونه *P. inundata* از گیاهان آلوده جداسازی شد.

پوسیدگی ریشه و طوقه سیب‌زمینی

نشانه‌های بیماری به صورت پژمردگی بوته‌های سیب‌زمینی و وجود لکه‌های آبسوخته و قهوه‌ای رنگ روی ریشه و طوقه در مزارع سیب‌زمینی مناطق جلین سفلی، معصوم‌آباد و توسکستان گرگان دیده شد، عمده آلودگی‌ها، بعد از مرحله گیاهچه و قبل از تشکیل غده‌ها دیده شد. از کشت نسوج آلوده جدایه‌هایی از گونه *P. cryptogea* مربوط به گروه II به‌دست آمد.

پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی

نشانه‌های بیماری به صورت زردی و پژمردگی برگ‌های پایینی بوته‌های گوجه‌فرنگی ظاهر شده و در شرایط هوای گرم و رطوبت بالای خاک خشکیدن گیاه سریع و در مدت ۴۸ ساعت اتفاق می‌افتاد. نشانه‌های بیماری در ریشه بوته‌های آلوده با زخم‌های آبسوخته همراه بود که تدریجاً خشک شده به رنگ قهوه‌ای تیره تغییر می‌یافت. در بازدید از مزارع گوجه‌فرنگی تعداد۳۰ جدایه *Phytophthora* از مناطق حسن‌آباد، میان‌آباد،هاشم‌آباد، سعدآباد و جاده قدیم کردکوی جداشد. جدایه‌های مذکور به گوجه‌فرنگی مایه‌زنی شد و علایم، ده تا پانزده روز بعد از مایه‌زنی، به صورت پژمردگی اولیه و پوسیدگی ریشه و طوقه ظاهر گردید. نشانه‌های بیماری غالباً در ناحیه طوقه گیاه مشهود بود. بروز لکه‌های پراکنده قهوه‌ای رنگ مایل به سیاه در قسمت‌های بالای ساقه نیز در گیاهان قابل توجه بود. به نظر می‌رسد علت این امر شرایط آب و هوایی گرم و مرطوب مطلوب برای بروز چنین علایمی است. جدایه‌ها مربوط به گونه *P. nicotianae* بودند.

پوسیدگی ریشه و طوقه زیتون

نشانه‌های بیماری در قسمت‌های هوایی به صورت سبز خشک شدن کامل نهال‌های ۳- ۵ ساله و در ناحیه طوقه و ریشه دارای علایم پوسیدگی همراه با تغییر رنگ نسوج پوست و کرتکس مشاهده شد. جدایه‌ها هم از ریشه‌های فرعی و هم طوقه به‌دست آمد. نهال‌های آلوده دچار پژمردگی شده و لکه‌های نکروزه قهوه‌ای رنگ در ریشه‌های اصلی و جانبی نشان می‌دادند. توسعه آلودگی در ریشه عموماً به سمت بالای محل آلودگی بود. در آلودگی‌های توسعه یافته، نوک ریشه‌های اصلی و جانبی پوسیده شده و اغلب به هنگام در آوردن گیاه از خاک کنده

Archive of SID

www.SID.ir

می‌شد. در جداسازی‌ها گونه *P. palmivora* از نهال‌های نهالستان‌های منطقه نودیجه به‌دست آمد.

پوسیدگی میوه خرمالو

میوه‌های آلوده با پوسیدگی و لکه‌های قهوه‌ای روی درخت‌های خرمالو نمایان بودند. که بعداز نمونه‌برداری از باغات مناطق فاضل‌آباد و حومه گرگان گونه *P. citrophthora* جداسازی شد.

پوسیدگی طوقه و ریشه کیوی

نشانه‌های بیماری به‌صورت زخم‌های قهوه‌ای روشن تا تیره روی ریشه‌های اصلی و جانبی مشاهده شد، در برش عرضی محل لکه‌ها به رنگ زرد تا قهوه‌ای روشن بودند. ریشه‌های فرعی اکثراً پوسیده و قهوه‌ای شده و پیشرفت آن به بالای محل آلودگی و ایجاد پوسیدگی قهوه‌ای رنگ در محل طوقه بود. از باغات مناطق سرخنکلاته و کردکوی گونه *P. cryptogea* مربوط به گروه II جداسازی شد.

پوسیدگی ریشه گیاه ژربرا

نشانه‌های بیماری به‌صورت پژمردگی بوته‌های ژربرا همراه با علایم پوسیدگی ریشه در منطقه کریم‌آباد مشاهده شد و جدایه‌هایی از ناحیه یقه و طوقه گیاهان بیمار جدا شد. از نسوج آلوده جدایه‌هایی از *P. cryptogea* گروه II به‌دست آمد.

ویژگی‌های جدایه‌ها

جدایه‌های *P. palmivora*

منظرهٔ رویشی جدایه‌ها یکنواخت تا شعاعی و فاقد ریسه هوایی بودند. ریسه‌ها ظریف و تقریباً یکنواخت تا موجدار بوده و عرض آنها ۳/۷ میکرومتر محاسبه شد. جدایه‌های مورد بررسی فاقد تورم ریسه بودند. کلامیدسپورها به تعداد زیاد در محیط مایع و جامد تشکیل شدند، آنها منفرد، غالباً انتهایی و در مواردی میانی، کروی بودند. قطر آنها (۴۳-۱۴)۲۸/۹ با میانگین ۷/۳۱µ m± ۳۱/۴۵ میکرومتر بود. اسپورانژیوم به تعداد فراوان در محیط جامد و مایع تشکیل شد. اسپورانژیوم‌ها به صورت سیمپودیال، ریزان با دم تقریبی ۴-۲µm، دارای پاپیل مشخص و به اشکال بیضوی، تخم مرغی و گلابی وارونه دیده شدند. ابعاد اسپورانژیوم‌ها µm(۳۵-۲۲) × (۵۵-۳۸) و میانگین µ m ۲۴/۹× ۴۴/۸ و نسبت طول به عرض ۱/۶ بودند. دماهای رشد کمینه ۱۲، بهینه ۳۰ و بیشینه ۳۳ درجه سانتی‌گراد تعیین شد. براساس ویژگی‌های مرفولوژیک و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و مقایسه توصیف این جنس (Erwin & Ribeiro 1996) هم‌چنین بررسی توالی نوکلئوتیدی ناحیه ITS د ان ا ریبوزومی جدایه‌ها، گونهٔ جدایه‌های مذکور *Phytophthora palmivora* تعیین شد.

جدایه‌های *P. cryptogea*

پرگنه قارچ در جدایه‌های کیوی و سیب‌زمینی کم و بیش کرکی با منظره گل سرخی کمی شعاعی و بدون ریسه هوایی بود. ریسه‌ها کمی غیریکنواخت، کمی موجدار که در محیط مایع تولید گروهی از تورم‌های ریسه زاویه دار، کروی یا نامنظم با انشعابات کوتاه و ظاهری شبکه‌ای یا آشیانه‌ای نمود. قطر ریسه در جدایه‌های کیوی µm (۳/۷۵-۷/۲) و در جدایه‌های سیب‌زمینی ۳/۷۵-۶/۷ با میانگین µm ۵/۱ بود قطر تورم ریسه در جدایه‌های کیوی (۳۲- ۱۰) و در جدایه‌های سیب‌زمینی (۲۹-۱۰) با میانگین µm ۲۰/۳ بود. اسپورانژیوم‌ها به اشکال تخم‌مرغی، گلابی وارونه و ندرتاً بیضوی، دارای بن گرد، بدون پاپیل و

Archive of SID

www.SID.ir

با نوک پهن صاف، غیرریزان و اغلب در مرکز دارای یک واکوئل بود. ابعاد اسپرانژیوم در جدایه‌های کیوی µm ۳۸-۲۴ × ۶۳-۳۲ با میانگین µm ۲۹/۷ × ۵۰/۱ و نسبت طول به عرض ۱/۶۸، در جدایه‌های سیب‌زمینی µm ۱۹× ۲۷ و نسبت طول به عرض آن ۱/۴۵ و در جدایه‌های ژربرا µm ۲۲/۴× ۳۱/۸ و نسبت طول بر عرض آن ۱/۴۱ تعیین گردید، اسپرانژیوفورها به‌صورت ساده، پرلیفراسیون داخلی و خارجی و به‌ندرت هم‌پایه، اسپورانژیوم‌های جدید را تولید نمودند. جدایه‌های مورد بررسی هتروتال بوده و در اثر تلاقی جدایه‌ها کیوی و سیب‌زمینی گرگان با یکدیگر اُاُسپور تولید نشد. دمای کمینه رشد ۵°C ، بهینه ۲۷ °C و بیشینه در جدایه‌های کیوی ۳۳°C -۳۰ و در جدایه‌های سیب‌زمینی ۳۰°C اندازه‌گیری گردید. جدایه‌ها سریع الرشد بوده، میانگین رشد روزانه در دمای بهینه هشت میلی‌متر تعیین شد. هم‌چنین بررسی توالی نوکلئوتیدی ناحیه ITS د ان ا ریبوزومی جدایه‌ها، گونهٔ جدایه‌های مذکور *Phytophthora cryptogea* از گروه II تعیین شد.

جدایه‌های *P. inundata*

پوسیدگی قهوه‌ای تیره تا سیاه رنگ ریشه و طوقه در بوته‌های باقلای منطقه توسکستان گرگان مشاهده شد. گیاهان آلوده اغلب پژمرده و خشک می‌شدند. جدایه‌های این میزبان دارای اسپرانژیوم‌هایی به اشکال تخم‌مرغی و ندرتاً بیضوی، دارای بن گرد، بدون پاپیل و با نوک پهن صاف، غیرریزان و اغلب در مرکز دارای یک واکوئل بودند. میانگین ابعاد اسپورانژیوم µm ۱۶ × ۲۴ و نسبت طول بر عرض ۱/۵ محاسبه، آماس ریسه‌های گرد تولید نمود و توانایی تولید کلامیدوسپور نداشت. جدایه‌های مورد بررسی هتروتال بوده و در اثر تلاقی جدایه‌های کیوی با یکدیگر اُاُسپور تشکیل نشد. دمای کمینه ۲، بهینه ۳۰ و بیشینه ۳۳ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. ویژه‌گی‌های مرفولوژی جدایه‌های این گیاه با خصوصیات گونه *P. cryptogea* مطابقت داشت. اما شناسایی جدایه‌ها با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ناحیه ITS دی ان ای ریبوزومی آنها (Mostoweizadeh-Ghalamfarsa *et al.* 2010) نشان داد که گونه مذکور *P. inundata* است.

جدایه‌های *P. citrophthora*

پرگنه از پشت تشتک پتری ابتدا کم و بیش منظره‌ای شعاعی و سپس اغلب شعله‌ای، گلسرخی و یا به‌طور کلی بدون ساختار بود. ریسه‌ها رشته‌ای و کمی زمخت، به‌ندرت دارای شاخه‌های جانبی گره‌دار، انشعابات آنها اغلب با زاویه حاده و بندرت با زاویه قائمه و عرض ریسه‌ها ۵ میکرومتر اندازه‌گیری شد. کلامیدسپور و آماس ریسه در جدایه‌های اخیر دیده نشدند. اسپورانژیوم به اشکال گلابی وارونه، بیضوی، تخم‌مرغی و کروی، دارای یک و گاهی دو پاپیل (به‌خصوص در محیط کشت مایع) بزرگ و نیم کروی بود. ابعاد اسپورانژیوم (۴۰-۱۸×۸۰-۲۰) ۲۸×۴۰ با میانگین ۲۹×۴۳ میکرومتر و نسبت طول به عرض ۱/۳۵ محاسبه شد. اسپورانژیوفرها ظریف و اغلب نازک‌تر از ریسه‌های معمولی بوده و به‌صورت غیرمنظم انشعاب پیدا کرده بودند. جدایه‌های مورد بررسی هتروتال بوده و اعضای جنسی تولید نکردند. مرحله جنسی این گونه در طبیعت مشاهده و یا شناسایی نگردیده و در نوشته‌های معتبر و رایج مانند *اروین و ریبرو* (۱۹۹۶) و *ارشاد* (۱۳۷۱) نیز به آن اشاره نشده است. دماهای اصلی رشد، کمینه ۵، بهینه ۲۷ و بیشینه ۳۳ درجه سانتی‌گراد بود و در دمای ۳۵ درجه قارچ کشته شد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدایه‌های *P. nicotianae*

پرگنه بی‌شکل، با انشعابات درختی، حاشیه صاف یا غیریکنواخت دارای ریسه‌های هوایی کوتاه تا بلند، ریسه‌ها تقریباً یکنواخت، انشعابات ریسه‌ها با زوایای حاده تا قائمه بوده و قطر ریسه‌ها (۵-۱/۷۵) با میانگین ۳/۷ میکرومتر اندازه‌گیری شد. تورم ریسه به اشکال گرد، تخم‌مرغی و زاویه‌دار، در محیط‌های مایع به تعداد نسبتاً زیاد تشکیل شد. قطر تورم ریسه (۲۵-۱۰) با میانگین ۱۸/۹ میکرومتر اندازه‌گیری گردید. کلامیدسپورها به اشکال گرد تا بیضوی، به صورت انتهایی یا میانی در محیط‌های جامد و مایع تشکیل شدند. و قطر کلامیدسپورها (۴۵/۵-۱۵) با میانگین ۳۴/۵ میکرومتر بود. اسپورانژیوم‌ها پاپیا، به اشکال تخم‌مرغی، گلابی وارونه و بیضوی با یک پاپیل برجسته و با ابعاد (۵۰-۳۰) × (۵۵-۴۰) میکرومتر و میانگین ۳۹/۵ × ۴۷/۷ میکرومتر و نسبت طول بر عرض ۱/۲ بودند. اسپورانژیوفورها به صورت ساده یا هم‌پایه، اسپورانژیوم‌های جدید را تولید نمودند. جدایه‌های مورد بررسی هتروتال بودند و تولید اندام‌های جنسی نکردند. دماهای رشد کمینه ۹، بهینه ۲۷ و بیشینه ۳۵ درجه سانتی‌گراد تعیین شد.

اثبات بیماری‌زایی

جدایه‌های *P. palmivora*

بیماری‌زایی جدایه‌ها با سه روش قید شده در بخش روش بررسی به اثبات رسید. علائم بیماری در نهال‌های ۵ ساله زیتون پس از دو ماه به‌صورت تغییر رنگ طوقه در محل مایه‌زنی و پوسیدگی ریشه مشاهده شد و نهایتاً نهال‌ها پس از شش‌ماه کاملاً خشک شدند. عامل بیماری‌زا نیز از نسوج طوقه و ریشه مجدداً جداسازی شد.

جدایه‌های *P. cryptogea*

بیماری‌زایی جدایه‌های کیوی با سه روش استفاده از ریختن، ورمی کولیت حاوی مایه قارچ در اطراف طوقه نهال‌ها در سطح خاک، مایه‌زنی با قرار دادن قطعاتی از محیط کشت حاوی ریسه جدایه زیر نسوج طوقه نهال‌های شش‌ماهه و شاخه بریده کیوی به اثبات رسید. علائم بیماری در نهال‌های ۱ ساله زیتون پس از ۳۵ روز به‌صورت تغییر رنگ ساقه در محل مایه‌زنی و پوسیدگی ریشه مشاهده شد و نهایتاً نهال‌ها پس از ۲ ماه کاملاً خشک شدند. عامل بیماری‌زا نیز از نسوج طوقه و ریشه مجدداً جداسازی شد. بیماری‌زایی جدایه‌های سیب‌زمینی با استفاده از مایه‌زنی خاک اطراف طوقه و منطقهٔ توسعهٔ ریشه صورت گرفت و علایم حدود ۱۰ تا ۱۵ روز بعد از مایه‌زنی به‌صورت پژمردگی، زردی و پوسیدگی ریشه نمایان گردید.

جدایه‌های *P. inundata*

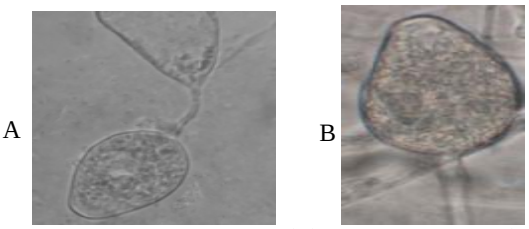
جدایه‌های باقلا با ریختن ورمیکولیت حاوی مایه قارچ در اطراف طوقه گیاه در سطح خاک و قرار دادن قطعاتی از محیط کشت حاوی ریسه جدایه زیر نسوج طوقه نشاها مایه‌زنی شدند و سه الی پنج روز بعد، علایم پژمردگی به همراه پوسیدگی سیاه رنگ ناحیه طوقه و ابتدای ساقه رویت شد و و بعد از پنج تا ده روز منجر به مرگ گیاهان گردید.

جدایه‌های *P. citrophthora*

در ابتدا میوه‌های سالم خرمالو انتخاب شده و بعد از شستن و ضدعفونی کردن سطح میوه‌ها با پنبه آغشته به الکل در کنار شعله با اسکالپل استریل قطعات هرمی شکل از میوه برداشته شد، پس از قراردادن قطعهٔ کوچکی از محیط

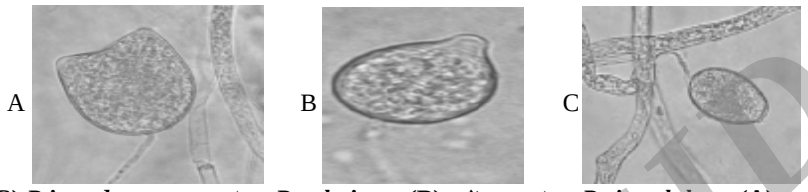
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱. اسپورانژیوم‌های ***P.cryptogea*** **(A) جدایه سیب‌زمینی و (B) جدایه کیوی**

Fig. 1. Sporangiums of *P. cryptogea* (A) isolate of potato and (B) isolate of kiwi



شکل ۲. اشکال اسپورانژیوم ***P.citrophthora*** **(A) جدایه خرمالو،** ***P.palmivora*** **(B) جدایه زیتون و*P.inundata* (C) جدایه باقلا**

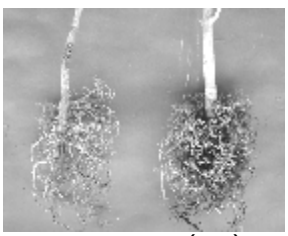
Fig. 2. Sporangiums of (A) *P. citrophthora* of persimmon,(B) *P. palmivora* of olive and (C) *P. inundata* of broad bean

شکل ۳. **(A) نشاهای سیب‌زمینی مایه‌زنی شده با** ***P. cryptogea*** **،(B) کاهش حجم ریشه و پوسیدگی طوقه نشاهای سیب‌زمینی مایه‌زنی شده با** ***P. cryptogea*** **و (C) نشاهای باقلا مایه‌زنی شده با** ***P. inundata***

Fig. 3. Seedling of potato inoculated with *P. cryptogea* (A), Reduce the size of the root and crown rot of potato inoculated with *P. cryptogea* (B) and seedling of broad bean inoculated with *P. inundata* (c)

شکل ۴. **(A) میوه‌های خرمالو مایه‌زنی شده با** ***P. citrophthora*** **و ظهور لکه‌های قهوه‌ای در میوه (B) نشاهای گوجه‌فرنگی مایه‌زنی شده با** ***P. nicotianae*** **. (C) نهال‌های کیوی مایه‌زنی شده با** ***P. cryptogea***

Fig. 4. (A) Inoculated Persimmon with *P. citrophthora* and appearance brown spot in fruit. (B) Seedling of tomato inoculated with *P. nicotianae*. (C) Seedling of kiwi inoculated with *P. cryptogea*.



شکل ۵. ریشه نهال زیتون مایه‌زنی شده با ***P. palmivora*** (چپ) در مقایسه با نهال سالم (راست)

Fig. 5. (A) Root of olive seedling inoculated with *P. palmivora* (left) compared with healthy seedling(right)

Archive of SID

www.SID.ir

کشت حاوی *P. citrophthora* و گذاشتن قطعهٔ خرمالو در جای خود، روی آن با پارافیلم بسته شده و داخل انکوباتور نگهداری گردیدند. پس از گذشت ۵ تا ۷ روز در سطح پوست لکه‌های قهوه‌ای نمایان شد. سپس از مرز بافت قهوه‌ای و سالم قطعاتی جدا و به محیط کشت CMA منتقل و گونه مذکور جداسازی گردید. از میوه مایه‌زنی شده با محیط کشت فاقد جدایه به عنوان شاهد استفاده شد.

جدایه‌های *P. nicotianae*

اثبات بیماری‌زایی با استفاده از مایه‌زنی خاک اطراف طوقه و منطقهٔ توسعهٔ ریشه صورت گرفت و هفت الی ده روز بعد از مایه‌زنی، نشانه‌های بیماری اکثراً به‌صورت پژمردگی و پوسیدگی ریشه و طوقه ظاهر گردید.

بحث

براساس منابع موجود تا قبل از انجام این تحقیق گزارشی از بیماری پوسیدگی فیتوفتورایی و جداسازی *Phytophthora* از درختان زیتون از ایران وجود ندارد. وجود این گونه روی نهال‌های زیتون از اسپانیا (Sanchez- Hernandez *et al.* 1997)، ایتالیا (Cacciola *et al.* 2000)، آرژانتین (Lucero *et al.* 2006) گزارش شده است، گونه *P. citricola* نیز از یونان (Kouyeas & Chitzanidis 1978) جداسازی و گزارش شده است. این اولین گزارش جداسازی گونه‌ای از جنس *Phytophthora* از زیتون در ایران است. از درختان کیوی تاکنون در ایران گونهٔ *P. citrophthora* از گیلان توسط (Taheri *et al.* 2008) گزارش شده است. گونه *P. cryptogea* به عنوان عامل پوسیدگی طوقه و ریشه کیوی از شیلی (Latorre *et al.* 1996) و نیوزلند (Stewart & Carrison 2008) گزارش شده است. همچنین گونهٔ *P. megasperma* (Conn *et al.* 1991) از آمریکا از درختان کیوی با علایم پوسیدگی ریشه جداسازی شده است. *P. drechsleri* از کیوی در کره (Yang *et al.* 2010) و *P. citrophthora* در هند (Chowdapa & Mohanan 1995) نیز گزارش شده است. جداسازی *P. cryptogea* از درختان کیوی برای اولین‌بار از ایران گزارش می‌شود. گونه *P. cryptogea* روی سیب‌زمینی از ایران توسط ارشاد (1992) گزارش شده است و همچنین در جهان از استرالیا توسط (بی‌نام ۱۹۵۷) و از آمریکا توسط (Rowe & Schmitthenner 1977) گزارش شده است.

همچنین این گونه قبلاً توسط *ارشاد* (۱۹۹۲) از ریشه ژربرا از تهران، کرج و رامسر گزارش شده بود و همچنین روی ژربرا از دانمارک (Toppe & Thinggaard 1998) و از ایتالیا (Garbalid *et al.* 2003) و (Minerdi *et al.* 2008) و دیگر نقاط جهان گزارش شده است. تفاوت *P.cryptogea* و *P.drechsleri* یک موضوع بحث‌انگیز در طبقه‌بندی گونه‌های فیتوفتوراست. توکر (Tucker 1931) با مقایسه *P.cryptogea* ، *P. drechsleri* و *P. Erythroseptica* تصدیق کرد که هر سه گونه به یکدیگر شبیه هستند اما از آنجائی‌که *P. drechsleri* قادر به رشد در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد بود او اظهار نمود که آنها می‌توانند براساس رشد در دمای۳۵ درجه سانتی‌گراد از یکدیگر جدا شوند. اگر چه دما به‌عنوان معیار اصلی برای جداکردن *P.cryptogea* و *P.drechsleri* از یکدیگر مورد استفاده قرار گرفت اما *واترهاوس* (Waterhouse 1963) حداکثر طول اسپورانژیوم را به‌عنوان ویژگی اصلی و حداکثر رشد در دماهای مختلف را به‌عنوان فاکتور ثانویه در تشخیص ابتدایی این دو گونه از یکدیگر در کلید خود نام برده است. براساس یافته‌های *میلز و همکاران* (Mills *et al.* 1991)

Archive of SID

www.SID.ir

جدایه‌های *P. cryptogea* و *P. derechsleri* تنوع زیادی را در ایزوزایم وmtDNA نشان دادند در نتیجه آنها به گروه‌های مختلف اختصاص داده شدند. هر یک از این گروه‌ها با هر دو نوع آنالیز تقریباً همسان بودند. هر دو روش نتایج خیلی مشابه داشتند و نشان دادند که این دو گونه نباید ترکیب شوند ترکیب نتایج ایزوزایم و آنالیز mtDNA نشان داد که حداقل ۷ گروه مولکولی مجزا به نمایندگی از ۱۲۳ جدایه که در این مطالعه ارزیابی شدند، وجود دارد. *جی و همکاران* (Jee *et al*. 1999) با آنالیز PCR-RFLP of rDNA نشان دادند که باندهای دو جدایه *P. cryptogea* و *P. derechsleri* به‌طور واضح از گونه‌هایی با روابط خویشاوندی نزدیک متفاوت است. آنها بر پایه مطالعات خود و مطالعات قبلی نتیجه گرفتند که این دو گونه آشکارا از لحاظ مرفولوژی و ژنتیکی تفکیک پذیر نیستند، اما چندین گروه در این مجموعه وجود دارد.

فورستر و همکاران (Forster *et al*. 2000) نه گروه مولکولی مجزا با شباهت کم ژنتیکی در بین دو گونه شناسایی کردند و نشان دادند که این دو گونه مونوفیلتیک نیستند یعنی جد مشترکی ندارند. به‌علاوه این نه گروه مولکولی روابط نزدیکی با یکدیگر نداشتند. براساس گزارش *مستوفی زاده و همکاران* (Mostoweizadeh-Ghalamfarsa *et al*. 2010) به‌طور کلی جدایه‌هایی که به‌عنوان *P. derechsleri* شناسایی شده‌اند بهینه دمای رشدشان ۳۰ درجه سانتی‌گراد است و به خوبی هم در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد رشد می‌کنند درحالی‌که دمای بهینه رشد برای *P. cryptogea* ۲۵ درجه سانتی‌گراد بوده است. بیشتر جدایه‌های *P. cryptogea* و *P. derechsleri* تقریباً در تمام محیط‌های کشت الگوی یکنواخت تولید کردند. اگر چه در محیط PDA کمی تفاوت داشتند. اما به‌طور کلی از الگوهای رشدی برای تشخیص گونه‌ها به درستی نمی‌شود استفاده کرد. این دو گونه را نمی‌توان فقط براساس خصوصیات ریخت‌شناسی از هم تفکیک کرد. مستوفی‌زاده و همکاران تأکید نمودند *P. cryptogea* و *P. derechsleri* از نظر ژنتیکی و نه از نظر خصوصیات ریخت‌شناسی از یکدیگر جدا هستند. *P. cryptogea* خود شامل حداقل سه گروه مولکولی مجزا می‌باشد، اما از لحاظ ریخت‌شناسی این گروه‌ها یکسان هستند. آنها ۱۱۷ جدایه از *P.cryptogea* , *P. derechsleri* و گروه خواهریشان *P. erythroseptica* را مورد ارزیابی قرار دادند. این ارزیابی براساس خصوصیات ریخت‌شناسی، فیزیولوژی و مولکولی و براساس توالی DNA نواحی کدکننده ß-tubulin, translation elongation factor 1α, elicitin ، توالی ITS و ژن‌های میتوکندریایی انجام شد. آنها براساس مشاهدات بین داده‌های فیلوژنتیکی نتیجه گرفتند که این دو گونه گروه‌های متفاوتی هستند. *P. derechsleri* به صورت منوفیلیتیک است درحالی‌که *P. cryptogea* متنوع‌تر است. سه گروه فیلوژنیک مجزا درون *P. cryptogea* مورد توجه قرار گرفت و پیشنهاد شد که *P. cryptogea* باید به صورت یک گونه مجزا باقی بماند. و در گروه *P. cryptogea* زیر گروه‌های GII و GIII نزدیک‌ترین رابطهٔ اجدادی با یکدیگر را داشتند و با زیر گروه GI رابطهٔ اجدادی دورتری داشتند. جدایه‌های *P. cryptogea* گروه II (GII) با گروه D *میلز و همکاران* (۱۹۹۱) یکسان بود (Mostoweizadeh-Ghalamfarsa *et al*. 2010). در این تحقیق با استفاده از پرایمر *مستوفی زاده و همکاران* (۲۰۱۰) تمامی‌گونه‌های *P. cryptogea* جدا شده از میزبان‌ها گروه II تشخیص داده شدند.

از باقلا تاکنون گونهٔ *P. megasperma* از استان آذربایجان غربی توسط *شکاری و همکاران* (Shekari *et al*. 2006) جداسازی شده بود. از ریشه‌های آلوده باقلا گونه

Archive of SID

www.SID.ir

P. megasperma var. *sojae* از آمریکا (Keen 1972)، *P. capsici* از آمریکا (Gevens *et al.* 1994) و از کره گونه *P. nicotianae* (Hyeuk -Jin *et al.* 2007) جداسازی شده بود. براساس اطلاعات ما از منابع موجود گونه *P. inundata* از باقلای ایران و جهان برای اولین‌بار گزارش می‌شود. *برازیر و همکاران* (Brasier *et al.* 2003) این گونه را از سایر گونه‌های فیتوفتورا تفکیک کردند. جدایه‌هایی از فیتوفتورا بیمارگر درختان و درختچه‌ها که قبلاً تعیین گونه نشده بودند و در گروه O قرار گرفته بودند توسط *برازیر و همکاران* (۲۰۰۳) با نام *P. inundata* تعیین نام شدند، جدایه‌های این گونه از نظر توالی ITS همراه جدایه‌هایی از *P. gonapodyides* و *P. Megasperma* در خوشه ۶ ITS (Cooke *et al.* 2000) قرار گرفته بودند و نزدیک‌ترین رابطه خویشاوندی را با *P. humicola* داشت (Brasier *et al.* 2003). او این گونه را از نظر ریخت‌شناسی به شرح زیر توصیف نموده است: اسپورانژیوم‌ها بدون پاپیل، هتروتال، اُاُگون بزرگ (با میانگین اندازه 40 µm) و دیواره ضخیم اُاُسپور، اُاُگون_ آنتریدی آمفی ژینوس، الگوی رویشی ویژه، بهینه بالای دمایی (۳۰-۲۸سانتی‌گراد)، رشد سریع در بهینه دمایی و بیشینه دمایی ۳۵-۳۷ درجه سانتی‌گراد (Brasier *et al.* 2003).

پس از معرفی این گونه توسط (Brasier *et al.* 2003)، جداسازی آن از گیاهان مختلفی گزارش شد که با توجه به تنوع ویژگی‌های ریخت‌شناسی آنها نمی‌توان توصیف ویژه‌ای برای تفکیک ریخت‌شناسی آن از سایر گونه‌های گروه‌های ۵ و ۶ جدول *واترهاوس* (Waterhouse 1963) در نظر داشت. بررسی بیماری‌زایی جدایه‌های این گونه از ۱۰ گونه گیاه چوبی و چندساله، ۱۶ گونه گیاه علفی و یک ساله، سه گونه علف هرز، شاخهٔ بریده ۲۱ گونه درخت و هشت گونه میوه، غدهٔ سیب‌زمینی و ریشه هویج و چغندرقند، بید، پسته، چغندرقند و گل عقربی، نشان داده است که جدایه‌های گیاهان چوبی تنها به نهال‌های بادام حمله نموده و توانایی حمله به گیاهان یک ساله و علف‌های هرز مورد آزمایش را نداشتند. آنها در فصل گرم در هیچ یک از شاخه‌های بریدهٔ مورد آزمایش پیشروی ننموده‌اند، اما در فصل سرد توانایی پیشروی روی تعدادی از شاخه را داشته‌اند، هم‌چنین جدایه‌های این بیمارگر قادر به پیشروی در تعدادی از میوه‌ها و ریشه چغندرقند نیز بوده‌اند. در نهایت هیچ تفاوتی در بیماری‌زایی این جدایه‌ها در گیاهان مختلف مشاهده نشده است (Safaie Farahani & Mostowfizadeh-Ghalamfarsa 2010).

گونه *P.citrophthora* قبلاً توسط *ارشاد* (۱۹۷۱) از میوه‌های آلوده خرمالو درمنطقه تنکابن جدا شده است. گونه *P. nicotianae* با ایجاد بیماری‌هایی نظیر مرگ گیاهچه، سوختگی اندام‌های هوایی، شانکر ساقه و پوسیدگی ریشه و طوقه، در بیش از ۳۰۰ گونه گیاهی در اغلب نقاط دنیا منجر به خسارت می‌شود. این گونه از گیاهان تیره *Solanaceae* مانند سیب‌زمینی و گوجه‌فرنگی از ایران جداسازی و گزارش شده است (Ershad 2009). هم‌چنین از گوجه از تایوان (Ho & Jong 1990) و آمریکا توسط لامور و *همکاران* (Lamour *et al.* 2003) و از کره توسط هیوک و *همکاران* (Hyeuk -Jin *et al.* 2007) گزارش شده است. در منطقهٔ گرگان آلودگی ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی به‌طور معمول بعد از مرحله گیاهچه تا قبل از میوه دهی بروز می‌نماید که علی‌رغم وجود شرایط مساعد بیماری شیوع ندارد، عدم بروز بیماری در مراحل بعدی رشد گیاه، را می‌توان به ایجاد مقاومت در مراحل بعدی رشد گیاه گوجه فرنگی نسبت داد (Hartman & Huang 1993). با توجه به سطح وسیع کشت آبی در منطقه که قسمت عمده‌ای از آن ولو به‌صورت پراکنده، تحت کشت گیاهان زراعی میزبان فیتوفتورا بوده و اغلب به دلیل گران بودن

Archive of SID

www.SID.ir

زمین‌های زراعی و کمی وسعت آنها به‌طور متوالی تحت کشت آبی قرار می‌گیرند، بیماری در این مناطق به‌ویژه در خاک‌های با بافت سنگین و فاقد زه‌کش و کشت متراکم بروز نموده و خسارت می‌زند، به نظر می‌رسد با مدیریت صحیح زراعی، بدون لزوم استفاده از روش‌های شیمیایی بیماری تا حد زیادی قابل کنترل باشد. در این راستا کشت محصولات با نیاز آبی شدید حتی الامکان در خاک‌های سبک‌تر، نرم کردن بستر خاک به منظور جلوگیری از توقف آب یکنواخت نمودن سطح مزرعه برای جلوگیری از انباشتن آب در قسمت‌های کم عمق مزرعه، احتراز از آبیاری‌های غرقابی سنگین و با فواصل کوتاه و تعبیه چندین جوی آب جداگانه در مزرعه برای اجتناب از آبیاری سنگین بخش‌هایی از مزرعه که در نزدیکی جوی‌های آب قرار دارند، قابل توصیه است.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (88-85) متن انگلیسی مراجعه شود.

Archive of SID

www.SID.ir