

شناسایی عامل لکه برگ و پوسیدگی نرم باکتریایی گیاهان زینتی در استان اصفهان

راضیه یزدانی^۱، مسعود شمس بخش^{۲*} و ناصر صفایی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

۲- نویسنده مسوول: دانشیار بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران. (shamsbakhsh@modares.ac.ir)

۳- دانشیار بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۶/۰۹ تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۶/۰۹

چکیده

لکه برگ و پوسیدگی نرم باکتریایی یکی از بیماری‌های مهم اقتصادی است که ریشه، غده، برگ و ساقه تعدادی از گیاهان زینتی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. این بیماری توسط طیف وسیعی از باکتری‌های پکتولیتیک ایجاد می‌شود. به منظور شناسایی عوامل لکه برگ باکتریایی گیاهان زینتی در استان اصفهان، تعداد ۷۰ نمونه از برخی گیاهان زینتی با علائم لکه برگ و پوسیدگی نرم از گلخانه‌های مختلف استان جمع آوری شد. پس از جداسازی باکتری‌ها، بیماری‌زایی جدایه‌ها با مایه‌زنی روی گیاهان میزبان اثبات شد. شناسایی باکتری‌ها با انجام آزمون‌های متداول فنوتیپی و آنالیز ترادف $16S rDNA$ انجام شد. نتایج این آزمون‌ها نشان داد جدایه‌های بررسی شده متعلق به گونه *Pectobacterium carotovorum* بودند. این اولین گزارش از شناسایی این باکتری از گیاهان زینتی در استان اصفهان می‌باشد.

کلید واژه‌ها: گونه *Pectobacterium carotovorum*، $16S rDNA$ ، تعیین ترادف

مقدمه

جنس پکتوباکتریوم یکی از مهمترین بیمارگرهای گیاهی گرم منفی متعلق به خانواده Enterobacteriaceae است. این جنس طیف وسیعی از علائم بیماری شامل پوسیدگی نرم، پژمردگی، را در دامنه وسیعی از گیاهان میزبان تک لپه‌ای و دو لپه‌ای و ساق سیاه را در سبب زمینی ایجاد می‌کند (مارکز- ویلاویسنسیو و همکاران^۱، ۲۰۱۱). از ویژگی‌های اصلی این باکتری‌ها، تولید و ترشح آنزیم‌های منهدم کننده دیواره سلولی، به ویژه آنزیم‌های پکتیناز یا پکتولیتیک است که موجب لهانیده شدن بافت‌های گیاهی می‌گردند

(باراس و همکاران^۲، ۱۹۹۴). جنس پکتوباکتریوم براساس اختلاف دامنه میزبانی و ویژگی‌های بیوشیمیایی و مولکولی به چندین گونه و زیرگونه تقسیم می‌شود (کوان و همکاران^۳، ۱۹۹۷). این جنس به پنج گونه *Pectobacterium carotovorum*, *P. atrosepticum*, *P. betavasculorum*, *P. brasiliensis* (ون در مرو و همکاران^۴، ۲۰۱۰) تقسیم می‌شوند و برای گونه *P. carotovorum* نیز سه زیرگونه *P. carotovorum*, subsp. *Carotorum*، *P. carotovorum*, subsp. *Odoriferum* (Pcc) و *P. carotovorum* subsp. *brasiliensis* توصیف

2- Barras et al.

3- Kwon et al.

4- Van der Merwe et al.

1- Marquez-Villavicencio et al.

همکاران، ۲۰۱۱)، استان‌های تهران و مرکزی (دهاقین و شمس بخش، ۲۰۱۴) گزارش شده است. هدف از انجام این پژوهش شناسایی گونه‌های پکتوباکتریوم عامل پوسیدگی نرم و لکه برگگی در استان اصفهان با استفاده از روش‌های مولکولی و بیوشیمیایی است. یافته‌های ما نشان داد که باکتری *P. carotovorum* یکی از عوامل اصلی پوسیدگی نرم و لکه برگگی در گیاهان زینتی این استان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری

در آبان ماه ۱۳۹۰ از گلخانه‌های گل زینتی در استان اصفهان نمونه‌های دارای علائم مشکوک از برگ، ساقه و گل گیاهان زینتی آگلونما (*Aglonema*)، روبلینی (*robellini*)، پتوس (*Scindapsus spp*)، سینگونوم (*Syngonium podophyllum*)، کاکتوس (*Schumbergera spp*)، آلوئورا (*Aloe vera*)، دیفن باخیا (*Diffenbachia amoena*)، اسپاتیفیلوم (*Spathiphyllum wallisii*)، گل ناز (*Portulaca grandiflora*)، رز (*Rosa hybrid*) و دراسنا (*Dracaena sp.*) جمع آوری شد. از باکتری‌های IBSBF-863 و *P. atrosepticum* (ATCC15713) و 1819 = ATCC33260 به عنوان جدایه‌های استاندارد از کلکسیون نگهداری باکتری IBSBF^۸ در برزیل استفاده شد.

جداسازی و خالص‌سازی

برای جداسازی باکتری‌های نمونه‌های بیمار، اندام‌های آلوده پس از شستشو با آب معمولی و ضد عفونی با هیپوکلرید سدیم یک درصد، خشک و قطعات کوچکی از نواحی حد فاصل بافت سالم و بیمار در تشک‌های پتری استریل حاوی آب مقطر استریل قرار

شده است (گاردان و همکاران^۱، ۲۰۰۳، دوارت و همکاران^۲، ۲۰۰۴). گونه‌ی *P. atrosepticum* و *Pcc* مهم‌ترین گونه و زیر گونه این جنس هستند که باعث خسارت شدید به محصولات زیادی در مزرعه و در طول انبارداری می‌شوند. در میان این‌ها *Pcc* دارای دامنه میزبانی و جغرافیایی وسیعتری است (ژئو و همکاران^۳، ۲۰۱۰).

در ایران اولین بار باکتری (*Pectobacterium*) *Erwinia* از پیازهای پوسیده سیکلامن جدا شد (حجارود، ۱۳۴۶). امانی با آزمایش‌های بیشتر گونه باکتری را (*Pectobacterium*) *Erwinia carotovora* معرفی نمود (امانی، ۱۳۴۶). از آن هنگام تاکنون، مطالعات متعددی جهت شناسایی این باکتری‌ها در مناطق مختلف کشور و بیشتر روی سیب زمینی صورت گرفته است (بهار و دانش، ۱۳۶۵؛ ظهورپرالک و همکاران، ۱۳۷۷؛ احمدوند و رحیمیان، ۱۳۸۱؛ سهیلی مقدم و حسن زاده، ۱۳۸۳؛ بقایی راوری و همکاران، ۲۰۱۱).

یکی از بخش‌های در حال رشد باغبانی در جهان و ایران، تولید گیاهان زینتی است. بسیاری از این گیاهان منشأ استوایی دارند، بنابراین شرایط محیط‌های گلخانه‌ای آن‌ها با زیستگاه بومی این گیاهان متفاوت است، در نتیجه گیاهان تحت تنش قرار می‌گیرند و مستعد آلودگی به انواع عوامل بیماری‌زا می‌شوند (چاز^۴، ۱۹۸۷). باکتری‌های پکتولیتیک یکی از عوامل مهم خسارت‌زا در گیاهان زینتی به حساب می‌آیند. وقوع اتروباکتریاهای پکتولیتیک عامل پوسیدگی نرم و لکه برگگی گیاهان زینتی در بسیاری از کشورهای جهان (بویراز و همکاران^۵، ۲۰۰۶؛ کیم و کیم^۶، ۲۰۰۷؛ آلیپی و لویز^۷، ۲۰۰۹) و از جمله گلخانه‌های شمال ایران (بقایی راوری و

1 - Gardan *et al.*

2- Duarte *et al.*

3- Zhu *et al.*

4- Chase

5- Boyraz *et al.*

6- Kim & Kim

7- Alippi & Lopez

8- Instituto Biológico Seção de Bacteriologia Fitopatologia

آزمون اثبات بیماری زایی

به این منظور از گیاهان میزبان (آگلونما، سینگونوم، رز و آگاو (*Agave sp.*)) استفاده شد. از کشت ۲۴ ساعت باکتری سوسپانسیونی با غلظت $10^7 \times 1$ سلول در میلی لیتر تهیه شد و به روش تزریق در فاصله بین رگرگ عمل مایه-زنی صورت گرفت. به منظور حفظ رطوبت مناسب، ۴۸ ساعت قبل و بعد از مایه‌زنی روی کلیه گیاهان با استفاده از پوشش پلاستیکی سلوفان پوشانده شد. از آب مقطر استریل به عنوان کنترل استفاده شد. علائم بعد از ۱۲ تا ۱۵ روز مشاهده شد. سپس از گیاهان دارای علائم نمونه‌هایی به صورت تصادفی انتخاب شد و پس از ضدعفونی و شست و شو، عمل جداسازی و هم‌چنین تکرار تعدادی از آزمون‌های بیوشیمیایی به منظور اطمینان از بیماری‌زایی باکتری مورد نظر انجام شد. برای انجام آزمون فوق حساسیت از گیاهان توتون (*Nicotiana tabacum cv. anthi*) و شمعدانی (*Pelargonium hortorum*) استفاده شد. به این منظور از کشت ۲۴ ساعت باکتری سوسپانسیونی با غلظت $10^8 \times 2$ تهیه و به برگ‌ها در فضای بین سلولی تزریق شد و نتایج بعد از ۲۴ تا ۴۸ ساعت ثبت شد (کلمنت و همکاران^۴، ۱۹۶۴).

استخراج دی ان ای

استخراج دی ان ای با استفاده از روش لیزر قلیایی صورت گرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت از کشت باکتری در محیط آگار غذایی، سوسپانسیونی از باکتری در داخل میکروتیوب‌های یک و نیم میلی لیتری تهیه شد. سپس به هر یک از تیوب‌ها ۵۰ میکرولیتر محلول KOH پنج در صد اضافه شد و بعد از ورتکس کردن به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شدند. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند و محلول‌رویی حاوی دی ان ای به طور مستقیم در واکنش پی سی آر به کار برده شد.

داده و با اسکالپل خرد شدند. پس از ۲۰ دقیقه، یک قطره از سوسپانسیون حاصله روی محیط آگار غذایی (NA) مخطط گردید و در آنکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس کلنی‌های منفرد مجدداً در محیط آگار غذایی خالص سازی شدند. همه‌ی جدایه‌ها در آب مقطر استریل در یخچال و در گلیسرول ۳۰ درصد در دمای ۸۰- نگهداری شدند.

آزمون‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی

به منظور شناسایی و جدا نمودن باکتری‌های متعلق به اروینیه‌های پکتولیتیک از دیگر باکتری‌ها، آزمون‌های لازم شامل رنگ آمیزی گرم، لهانیدن ورقه‌های سیب زمینی، لوان، هیدرولیز اسکولین، رشد در دمای ۳۹ و ۴۱ درجه سلسیوس، تولید ایندول، تحمل نمک طعام ۲، ۳ و ۵ درصد، تولید H_2S از سیستین، احیاء مواد از سوکروز و اوره‌آز به روش شاد و همکاران^۱ (۲۰۰۱) انجام گرفت. آزمون اکسیداز با قرار دادن توده‌ای از کلنی روی کاغذ آغشته به محلول یک درصد تترامیل دی آمین دی هیدروکلراید صورت گرفت (شاد و همکاران، ۲۰۰۱). آزمون کاتالاز، هیدرولیز ژلاتین، هیدرولیز نشاسته و آرژین دی‌هیدرولاز صورت گرفت. آزمون احیای نیترات و با افزودن معرف‌های سولفانلیک اسید و آلفا نفتیل آمین در اسید استیک انجام شد. تشکیل هاله در محیط کشت پلی گلاکتورونیک اسید نیز برای تایید لهانیدن ورقه‌های سیب زمینی انجام گرفت (دلگادو-جارانا و همکاران^۲، ۲۰۰۵). آزمون استفاده از منابع مختلف کربوهیدراتی شامل سوکروز، گلوکز، سلویوز، مالتوز، رافینوز، لاکتوز، دی‌تارتارات، سوربیتول و دی‌آرابیتول و سترات به عنوان تنها منبع کربن و انرژی به روش شاد و همکاران (۲۰۰۱) و با استفاده از محیط کشت آیر و همکاران انجام گرفت. آزمون رشد در شرایط هوازی و بی‌هوازی به روش هیو و لایفسون^۳ (۱۹۵۳) انجام گرفت.

- 1- Schaad *et al.*
- 2- Delgado-Jarana *et al.*
- 3- Hugh & Leifson

لکه‌های آفسوخته به رنگ زرد مایل به قهوه‌ای دارای حلقه‌های متحدالمرکز تیره و روشن و بعضی اوقات همراه با هاله زرد رنگ، ۶۴ استرین جداسازی و خالص سازی شد از این میان ۱۵ جدایه بر اساس آزمون‌های بیوشیمیایی *P. carotovorum* تشخیص داده شدند. برای ادامه کار سه جدایه بر اساس شدیدترین علائم بیماری زایی و گونه میزبان به عنوان نماینده انتخاب شدند (جدول ۱).

آزمون بیماری زایی

علائم بیماری تقریباً ۷-۱۰ روز بعد از تزریق در فاصله بین رگبرگ‌ها ظاهر شد. علائم پوسیدگی نرم و لکه برگگی روی آگلونما، لکه برگگی و بلایت روی آگاو و سینگونیوم بودند. که بعد از مدتی (حدود ۱۴ روز) گسترش پیدا کردند و بخش وسیعی از سطح مایه زنی شده زرد و سپس نکروز شد و هاله زرد رنگ اطراف لکه نکروز را احاطه کرد. در گیاهانی که با آب مقطر استریل تزریق شدند، هیچ گونه علائمی مشاهده نشد (شکل ۱). جدایه‌هایی که بیماری زایی آنها مثبت بود جدا و ویژگی‌های بیوشیمیایی آنها بررسی شد. همچنین در بازیابی دوباره باکتری، پس از جداسازی و کشت در محیط آگار غذایی، باکتری مورد نظر دوباره به دست آمد و آزمون‌های بیوشیمیایی لازم برای شناسایی مجدد آنها این موضوع را اثبات کرد. آزمون فوق حساسیت روی گیاه شمعدانی و توتون نیز برای هر سه جدایه مثبت بود (شکل ۱).

آنالیز فیلوژنتیکی توالی ۱۶S rDNA

نتایج حاصل از تعیین ترادف ناحیه 16S rDNA جدایه E3YM با طول ۹۰۷ جفت باز نشان داد که این جدایه با سایر جدایه‌های *P. carotovorum* در پایگاه اطلاعات داده حدود ۹۹٪ همسانی داشت. درختان فیلوژنتیک که با هر سه روش ذکر شده در مواد و روش انجام شد نشان داد که جدایه E3YM با جدایه های *P. carotovorum* در یک گروه قرار گرفت (شکل ۲).

پی سی آر، تعیین ترادف و آنالیز فیلوژنتیکی

قطعه rDNA ۱۶S برای هر جدایه با استفاده از آغازگرهای 5'-AGAGTTTGATGAT-3' و 3'-CMTGGCTCAG-5' و 3'-TTCTGCAGTCTAGAAGGAGGTGW-TCCAGCC-5' تکثیر شد. شرایط پی سی آر توسط پوزا و همکاران^۱ (۲۰۰۸) توصیف شده است. تفکیک دی ان ای تکثیر شده در ژل آگارز یک درصد رنگ آمیزی شده با اتیدیوم برماید انجام شد. ژل با استفاده از دستگاه ویر لورمنت^۲ (فرانسه) عکسبرداری شد. محصول پی سی آر به وسیله کیت استخراج دی ان ای سیناژن^۳ از ژل استخراج شد. سپس قطعه تکثیر شده برای تعیین ترادف به شرکت بیونیر^۴ کره جنوبی ارسال گردید. ترادف‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار کلاستال ایکس^۵ و ویرایش شد و با ترادف‌های مشابه در سایت NCBI^۶ همردیف و با استفاده از نرم افزار مگافایو^۷ مقایسه و درخت فیلوژنتیکی با سه روش کمترین فرضیات^۸، بیشینه درست نمایی^۹ و اتصال همسایه^{۱۰} رسم شد و میزان اطمینان به الگوی شاخه‌ها با ۱۰۰۰ بار فراوانی ارزیابی شد. توالی منتشر شده جدایه *Buchnera aphidicola* (L18927) به عنوان گروه خارجی استفاده شد.

نتایج

شناسایی پکتوباکتریوم در گیاهان زینتی

در مجموع از ۷۰ نمونه گیاهی مشکوک به آلودگی از گیاهان زینتی نمونه‌های دارای علائم لهیدگی،

- 1- Poza et al.
- 2- Viber Lourmant
- 3-Cinnagen
- 4- Bioneer
- 5- Clustal x
- 6- National Center for Biotechnology Information
- 7- MEGA5
- 8- Maximum parsimony
- 9- Maximum likelihood
- 10- Neighbour-joining

جدول ۱- مقایسه خصوصیات فنوتیپی جدایه‌های بدست آمده از گیاهان زیتنی استان اصفهان با جدایه استاندارد

Pectobacterium carotovorum subsp. *carotovorum* (ATCC15713)

جدایه استاندارد	واکنش			آزمون
	E15W	E52W	E3YM	
-	-	-	*_	گرم
کرم	کرم	سفید	کرم	رنگ در محیط NA
+	+	+	**+	بیماری زایی
	آگلونما	پتوس	دراسنا	میزبان
+	+	+	+	واکنش فوق حساسیت
-	-	-	-	تولید رنگ فلورسنت در KB
-	-	-	-	اکسیداز
+	+	+	+	پلی گالاکتورونیک اسید
+	+	+	+	لهانیدن سیب زمینی
-	-	-	-	تولید لووان
-	-	-	-	رنگ زرد در YDC
-	-	-	-	آرژنین دهیدرولاز
+	+	+	+	رنگ سبز متالیک
				در EMB
F	F	F	***F	O/F
+	+	+	+	هیدرولیز اسکولین
+	+	+	+	رشد در دمای ۳۷ C
-	-	-	-	رشد در دمای ۴۱ C
+	+	+	+	تحمل نمک ۳ و ۲ درصد
+	+	+	+	تحمل نمک ۵ درصد
+	+	+	+	احیای نیترات
-	-	-	-	تولید ایندول
-	-	-	-	هیدرولیز نشاسته
+	+	+	+	تولید H2S از سیستین
+	+	-	-	متیل رد
-	-	-	-	احیای مواد از سکروز
-	-	-	-	اوره آز
+	+	+	+	کاتالاز
+	+	+	+	استفاده از سکروز
+	+	+	+	گلوکز
+	+	+	+	سلوبیوز
-	-	-	-	مالتوز
+	+	+	+	رافینوز
+	+	+	+	لاکتوز
-	-	-	-	دی تارتیت
-	-	-	-	سوربیتول
-	-	-	-	دی آرابیتول
+	+	+	+	سیترات

***F: بی‌هوای اختیاری

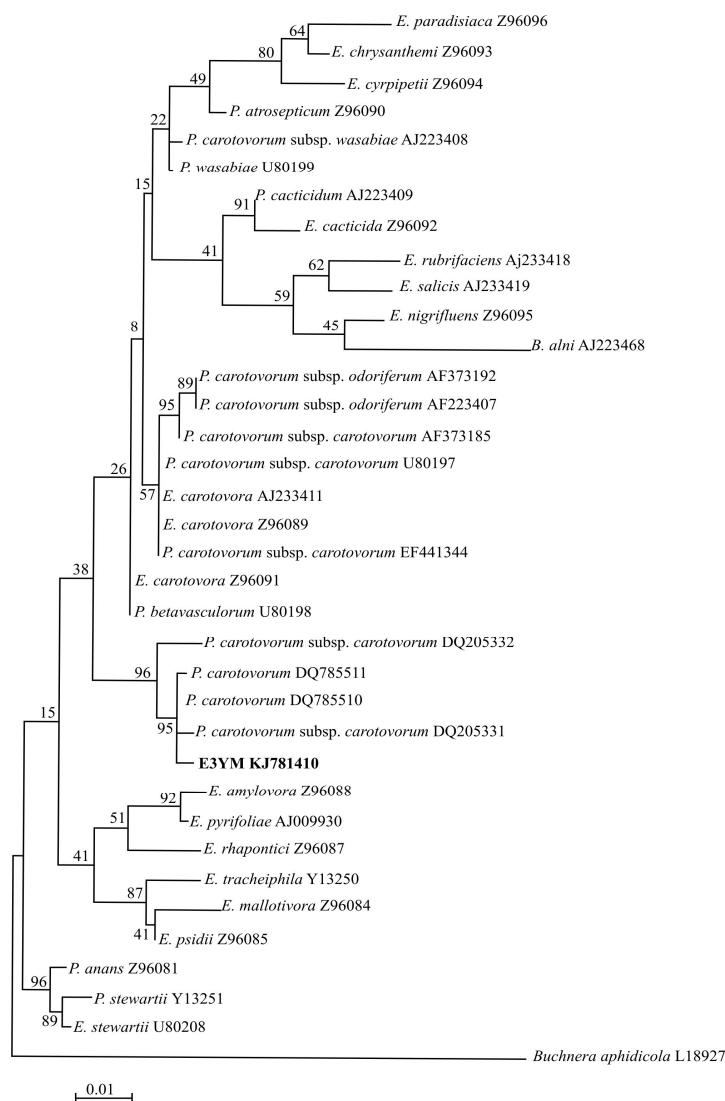
** (+): مثبت

* (-): منفی

یزدانی و همکاران: شناسایی عامل لکه برگگی و پوسیدگی...



شکل ۱- علائم بیماری زایی روی گیاهان زیتنی شامل آگلونما (*Aglaonema treubii*) (آ.ب.ت)، سینگونوم (*Syngonium*) (*podophyllum*) (د)، آگاو (*Agave sp.*) (ذ)، و واکنش فوق حساسیت روی شمعدانی (*Pelargonium hortorum*) (س).



شکل ۲- درخت فیلوژنتیکی حاصل از مقایسه جدا به E3YM و برخی از گونه‌های بیماری‌زای گیاهی خانواده Enterobacteriaceae در NCBI بر اساس ناحیه 16S rDNA با استفاده از روش بیشینه درست‌نمایی

بحث

در پژوهش حاضر جدایه‌های باکتری از گیاهان زینتی کشت شده در گلخانه‌های استان اصفهان جداسازی شد. در نتیجه سه جدایه E3YM، E52W و E15W که به ترتیب از برگ پتوس، دراسنا و آگلونما به دست آمد بر اساس آزمون‌های فنوتیپی و بیماری‌زایی متعلق به گونه‌ی *P. carotovorum* تشخیص داده شدند. تعیین ترادف ناحیه rDNA ۱۶S جدایه E3YM که به عنوان جدایه نماینده انتخاب شد بیش‌ترین شباهت در سطح ۹۹ درصد با *P. carotovorum* داشت.

گونه‌ی *P. carotovorum* به عنوان عامل بیماری‌زا از خانواده‌های گیاهی کلمیان، سولاناسه^۱، چتریان، سوسنیان، کورکوریئاسه^۲ (توت و همکاران^۳، ۲۰۰۳) و آراسه^۴ (هو و همکاران^۵، ۲۰۰۸) گزارش شده است. این باکتری از گیاهان زینتی زیادی از جمله آگلونما (چائو و همکاران، ۲۰۰۶)، اسپاتی فیلوم (آلیبی و لوپز، ۲۰۰۹)، برملیا، کردلین، سینگونوم، آلونه، سرنوس، گونه‌های مختلف کاکتوس، سدوم (چاز، ۱۹۹۷)، لاله (بویراز و همکاران، ۲۰۰۶) و یوفوریا (سوسلو و مک کین^۶، ۱۹۷۹) از مناطق مختلف دنیا جداسازی و گزارش شده است. بعلاوه *P. carotovorum* از گیاهان زینتی تک لپه و دولپه متعددی از مناطق مختلف ایران جداسازی و گزارش شده است (بقایی راوری و همکاران، ۲۰۱۱، دهاقین و شمس بخش، ۲۰۱۴). ویژگی‌های بیوشیمیایی جدایه‌های بررسی شده در این مطالعه مشابه گونه‌های تپ توصیف شده توسط شاد و همکاران در ۲۰۰۱ بود. این ویژگی‌ها تعلق این جدایه‌ها را به *P. carotovorum* و همچنین دامنه میزبانی و پراکنش جغرافیایی وسیع این باکتری را تایید می‌کند. گیاهان زینتی مستعد بیماری‌زایی توسط *P. carotovorum*

هستند، زیرا از ویژگی‌های اصلی باکتری های *Pectobacterium*، تولید و ترشح آنزیم‌های منهدم کننده دیواره سلولی، به ویژه آنزیم های پکتیناز یا پکتولیتیک است که موجب لهانیده شدن بافت‌های گیاهی می‌گردند (باراس و همکاران، ۱۹۹۴). پوسیدگی های نرم باکتریایی بیشتر روی گیاهانی که بافت‌های ذخیره‌ای یا برگ و ساقه‌های نرم و آبدار دارند (از جمله گیاهان آپارتمانی آگلونما، پتوس و دراسنا) رخ می‌دهد. اقداماتی از جمله پاشیدن آب روی سطح گیاهان، تراکم بیش از حد گیاهان در گلخانه گردش هوا را اطراف گیاهان کم می‌کند و همچنین باعث ایجاد زخم‌های کوچک روی سطح برگ می‌شود و شرایط مساعدی برای ایجاد بیماری فراهم می‌کند.

با توجه به نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی، دامنه میزبانی و آنالیز ترادف rDNA ۱۶S جدایه E3YM به نظر می‌رسد این جدایه شباهت بیشتری به زیر گونه *Pcc* دارند. هر چند برای اثبات این فرضیه نیاز به بررسی‌های بیشتر از جمله تعیین ترادف چند ژن خانه‌داری و انجام آنالیزهای فیلوژنتیکی بر اساس ترادف آنها برای تعیین زیر گونه ضروری است. همچنین لازم است که مطالعه گسترده-تری روی پکتوباکتریوم‌های مولد پوسیدگی نرم و لکه برگی روی میزبان‌های بیشتری از گیاهان زینتی در مناطق مهم تولید گل در ایران به منظور شناسایی دقیق‌تر و دستیابی به راه‌های کنترل بهتر این بیمارگر انجام پذیرد. با توجه به شناسایی این باکتری در گیاهان زینتی استان اصفهان لازم است پرورش دهنده‌های گل تمهیدات لازم برای جلوگیری از خسارت این باکتری را در برنامه کار تولید خود پیش بینی کنند.

سپاس‌گزاری

از حمایت مالی دانشگاه تربیت مدرس برای انجام

این پژوهش قدردانی می‌شود.

- 1- Solanaceae
- 2- Cucurbitaceae
- 3- Toth *et al.*
- 4- Araceae
- 5- Hu *et al*
- 6- Suslow & McCain

منابع

۱. امانی، ب. ۱۳۴۶. گنبدیدگی نباتات زینتی و سبزیجات. مجله بیماری‌های گیاهی. جلد ۴، ص ۱۳.
۲. احمدوند، ر. و رحیمیان، ح. ۱۳۸۱. بررسی تنوع‌های پکتولیتیک بیماری‌زا روی سیب زمینی در *Erwinia* استان همدان. خلاصه مقالات پانزدهمین کنگره گیاه پزشکی ایران، ص ۱۸۷.
۳. بهار، م. و دانش، د. ۱۳۶۵. بروز بیماری ساق سیاه سیب زمینی در اصفهان. خلاصه مقالات هشتمین کنگره گیاه پزشکی ایران، ص ۱۰۳.
۴. حجارود، ق. ع. ۱۳۴۶. پوسیدگی نرم غده سیکلامن در ایران. مجله بیماری‌های گیاهی. جلد ۴، ص ۲.
۵. سهیلی مقدم، ب. و حسن زاده، ن. ۱۳۸۳. شناسایی اروینیا‌های مولد بیماری پوسیدگی نرم سیب زمینی در استان اردبیل. خلاصه مقالات شانزدهمین کنگره گیاه پزشکی ایران، ص ۲۲۷.
۶. ظهورپرالک، ا.، رحیمیان، ح. و بنی هاشمی، ض. ۱۳۷۷. شناسایی *Erwinia* های مولد پوسیدگی نرم سیب زمینی در استان فارس. خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاه پزشکی ایران، ص ۱۷۱.
7. Alippi, A.M., and Lopez, A.C. 2009. First Report of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* on *Spathiphyllum wallisii* in Argentina. *Plant Disease*, 93: 842-843.
8. Baghaee-Ravari, S., Rahimian, H., Shams-Bakhsh, M., Lopez-Solanilla, E., Antúnez-Lamas, M., and Rodríguez-Palenzuela, P. 2011. Characterization of *Pectobacterium* species from Iran using biochemical and molecular methods. *European Journal of Plant Pathology*, 129: 413-425.
9. Barras, F., Van Gijsegem, F., and Chatterjee, A.K. 1994. Extracellular enzymes and pathogenesis of soft-rot *Erwinia*. *Annual Review of Phytopathology*, 32: 201-34.
10. Boyraz, N., Bastas, K.K., Maden, S., and Yasar, A. 2006. Bacterial leaf and peduncle soft rot caused by *Pectobacterium carotovorum* on Tulips in Konya, Turkey. *Phytoparasitica*, 34: 272-280.
11. Chao, Y.C., Feng, C.T., and Ho, W.C. 2006. First report of *Aglaonema* bacterial blight caused by *Erwinia chrysanthemi* in Taiwan. *Plant Disease*, 90: 1358.
12. Chase, A.R. 1997. *Foliage plant diseases: Diagnosis and control*, American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota, USA. 218.
13. Chase, A.R. 1987. Leaf and petiole rot of *Ficus lyrata* cv. *compacta* caused by *Pseudomonas cichorii*. *Plant Pathology*, 36: 219-221.
14. Dahaghin, L. and Shams-bakhsh, M. 2014. Identification and genetic diversity of pectolytic phytopathogenic bacteria of mono- and dicotyledonous ornamental plants in Iran. *Journal of Plant Pathology*. 96: 271-279.

15. Delgado-Jarana, J., Martinez-Rocha, A.L., Roldan-Rodriguez, R., Roncero, M.I., and Di Pietro, A. 2005. *Fusarium oxysporum* G-protein beta subunit Fgb1 regulates hyphal growth, development, and virulence through multiple signalling pathways. *Fungal Genetics and Biology*, 42:61-72.
16. Duarte, V., De Boer, S.H., Ward, L.J., and de Oliveira, A.M.R. 2004. Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. *Journal of Applied Microbiology*, 96: 535-545.
17. Gardan, L., Gouy, C., Christen, R., and Samson, R. 2003. Elevation of three subsp. of *Pectobacterium carotovorum* to species level: *Pectobacterium atrosepticum* sp. nov., *Pectobacterium betavascularum* sp. nov. and *Pectobacterium wasabiae* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53: 381-391.
18. Hu, X.F., Ying, F.X., Gao, Y.Y., Chen, H.M., and Chen, J.S. 2008. Characterization of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* causing soft-rot disease on *Pinellia ternate* in China. *European Journal of Plant Pathology*, 120: 305-310
19. Hugh, R., and Leifson, E. 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. *Journal of Bacteriology*, 66: 24-26.
20. Kim, S.G., and Kim, Y.H. 2007. First report on bacterial soft rot of graft-cactus *Chamaecereus silvestrii* caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* in Korea. *Plant Pathology*, 23: 314-317.
21. Klement, Z., Farkas, G. and Lovrekovich, L. 1964. Hypersensitive reaction induced by phytopathogenic bacteria in the tobacco leaf. *Phytopathology*, 54: 474-477.
22. Kwon, S.W., Go, S.J., Kang, H.W., Ryu, J.C., and Jo, J.K. 1997. Phylogenetic analysis of *Erwinia* species based on 16S rRNA gene sequences. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47: 1061-1067.
23. Marquez-Villavicencio, M.D.P., Groves, R.L., and Charkowski, A.O. 2011. Soft rot disease severity is affected by potato physiology and *Pectobacterium* taxa. *Plant Disease*, 95: 232-241.
24. Poza-Carrion, C., Aguilar, I., Gallego, F., Nunez-Moreno, Y., Biosca, E., Gonzalez, R., Lopez, M., and Rodriguez-palenzuela, P. 2008. *Brenneria quercina* and *Serratia spp.* Isolated from Spanish oak trees: molecular characterization and development of PCR primers. *Plant Pathology*, 57(2): 308-319.
25. Schaad, N.W., Jones, J.B., and Chun, W. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota, USA.
26. Suslow, T., and McCain, A.H. 1979. Etiology, host range and control of a soft rot bacterium from cactus. *Phytopathology*, 69: 921 (Abstract).
27. Toth, I.K., Bell, K. S., Holeva, M.C., and Birch, P.R.J. 2003. Soft rot *Erwinia*: From genes to genomes. *Molecular Plant Pathology*, 4:17-30.

یزدانی و همکاران: شناسایی عامل لکه برگگی و پوسیدگی...

28. Van der Merwe, J.J., Coutinho, T.A., Korsten, L., and Van der Waals, E. 2010. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* causing blackleg on potatoes in South Africa. *European Journal of Plant Pathology*, 126: 175-185.
29. Zhu, L., Xie, H., Chen, S., and Ma, R. 2010. Rapid Isolation, identification and phylogenetic analysis of *Pectobacterium carotovorum*. *Journal of Plant Pathology*, 92 (2): 479-483.