



Plant Pathology Science

Volume 9(1), 2020

(pISSN:2251-9270, eISSN: 2588-6290)



دانش بیماری شناسی گیاهی

سال نهم، جلد ۱، پاییز و زمستان ۱۳۹۸ (شاپاچ: ۹۲۷۰-۲۲۵۱، شاپا ا: ۶۲۹۰-۲۵۸۸)

Contents

Title	Page
1- Optimal method for production of mycelia biomass of <i>Ganoderma lucidum</i> in sugarcane molasses (Research Article)	
S. Ahmadifar, S. M. Hosseini, E. Mohammadi Goltapeh, A. Jahedi	1
2- Report of five species of plant parasitic nematodes associated with hawthorn forest trees in western Iran (Research Article)	
Z. Zolfaghari, E. Bazgir , A. Naghavi.....	15
3- Effect of eight essential oils on bacterial canker disease in citrus (Research Article)	
R. Rezaei.....	30
4- Frocasting and monitoring system of date palm bunch feding in Khozestan province (Research Article)	
M.Latifian , E. Rahkhodaei	40
5- Scab diseases of apple and pear (Review Article)	
L. Ebrahimi.....	57
6-Review of durable management of soil-borne plant pathogens (Review Article)	
M. Najafiniya , M. Azadvar.....	68
7- Role of betasatellites in interaction of viruses with plants (Extensional Article)	
N. Mosharaf, S. Tabein, S. A. Behjatnia, A. Safi	78
8- Dutch elm disease (Extensional Article)	
M. Mehrabioun Mohammadi, N. Ahmadi, M. Arzanlou	91
9- Application of seaweeds in plant disease management (Extensional Article)	
A. A. Dehghan , R. Ghaderi.....	101
10- The role of brassinosteroid hormones in plant response to pathogens (Extensional Article)	
A. Tahmasebi, M. H. Ghodoum Parizipour.....	108
11- Oak charcoal rot disease in Iran (Review Article)	
S. Ahmadi, F. Ghaderi , D. Safaee.....	118
12- Impact of six essential oils on strawberry gray mold (Research Article)	
N. Beikzadeh , H. Afzali	129

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱.....	۱- روش بهینه تولید زیست توده میسلیمومی <i>Ganoderma lucidum</i> در ملاس نیشکر (مقاله پژوهشی)
۱.....	سعیده احمدی فر، سید محسن حسینی، ابراهیم محمدی گل تپه و اکبر جاهدی.....
۱۵.....	۲- معرفی پنج گونه نماتد انگل گیاهی از درختان جنگلی زالک غرب ایران (مقاله پژوهشی)
۱۵.....	زینب ذوالفقاری، عیدی بازگیر و آرزو نقوی.....
۳۰.....	۳- اثر هشت اسانس گیاهی بر بیماری شانکر باکتریایی مرکبات (مقاله پژوهشی)
۳۰.....	رسول رضائی.....
۴۰.....	۴- سیستم پیش آگاهی و ردیابی بیماری خشکیدگی خوشه خرما در استان خوزستان (مقاله پژوهشی)
۴۰.....	مسعود لطیفیان و اسماعیل راهخدایی.....
۵۷.....	۵- بیماری های لکه سیاه سیب و گلابی (مقاله مروری)
۵۷.....	لیلا ابراهیمی.....
۶۸.....	۶- مروری بر روشهای مدیریت پایدار بیمارگرهای گیاهی خاک برد (مقاله مروری)
۶۸.....	موسی نجفی نیا و مهدی آزادوار.....
۷۸.....	۷- نقش بتاستلایت ها در برهمکنش ویروس ها با گیاهان (مقاله ترویجی)
۷۸.....	نادیا مشرف، سعید تابعین، سید علی اکبر بهجت نیا و آتنا صافی
۹۱.....	۸- بیماری مرگ هلندی نارون (مقاله ترویجی)
۹۱.....	مرضیه محرابیون محمدی، نرگس احمدی و مهدی ارزنلو.....
۱۰۱.....	۹- کاربرد جلبک های دریایی در مدیریت بیماری های گیاهی (مقاله ترویجی)
۱۰۱.....	علی اصغر دهقان و رضا قادری.....
۱۰۸.....	۱۰- نقش هورمون های براسینواستروئیدی در واکنش گیاهان به بیمارگرها (مقاله ترویجی)
۱۰۸.....	امین الله طهماسبی و محمدحامد قدوم پاریزی پور
۱۱۸.....	۱۱- بیماری پوسیدگی ذغالی بلوط در ایران (مقاله مروری)
۱۱۸.....	سمانه احمدی و فریبا قادری و داریوش صفایی.....
۱۲۹.....	۱۲- اثر شش اسانس گیاهی بر کپک خاکستری توت فرنگی (مقاله پژوهشی)
۱۲۹.....	ناصر بیک زاده و حمید افضلی

Semiannual Scientific Peer-reviewed Journal

Plant Pathology Science

Volume 9(1), 2020

The scientific credibility of this journal is approved by
the Ministry of Science, Research and Technology of Iran

Proprietor : Yasouj University

Executive Director : Mehdi Sadravi

Editor in Chief : Mohammad Abdollahi

Editorial Board	
1- Dr. Seied Ali Akbar Behjatnia	Professor of Plant Pathology, Shiraz University, Shiraz, Iran.
2- Dr. Seied Mohsen Taghavi	Professor of Plant Pathology, Shiraz University, Shiraz, Iran.
3- Dr. Habibollah Hamzeh-Zarghani	Associate Professor of Plant Pathology, Shiraz University, Shiraz, Iran.
4- Dr. Mehdi Sadravi	Associate Professor of Plant Pathology, Yasouj University, Yasouj, Iran.
5- Dr. Mohammad Salehi Abarghuei	Professor of Plant Pathology, Fars Research Center of Agriculture and Natural Resources, Fars, Iran.
6- Dr. Mohammad Abdollahi	Professor of Plant Pathology, Yasouj University, Yasouj, Iran.
7- Dr. Mohammad Reza Moosavi	Associate Professor of Plant Pathology, Islamic Azad University, Marvdasht Branch, Marvdasht, Iran.

Aim and Scope: The semiannual journal “Plant Pathology Science” publishes Research, Review and Extensional Articles containing new findings in all aspects of plant pathology include: Mycology, Bacteriology, Nematology, Virology, Nutritional deficiencies, Environmental stresses, Flowering parasitic plants, and Plants Diseases Management Methods, that have not been previously published in any way, or sent simultaneously to other journals, by scientific and literary judgment, since 2012. Accepted articles will be published with Open access at no charge.

Address : Daneshju Ave., Yasouj University, Faculty of Agriculture, P. O. Box: 353, P. Code: 75918-74831, Yasouj, Iran.

Tel: +98-74-31006308

E. mail: ijplantpatholsci@yu.ac.ir

Web Site: <http://yujs.yu.ac.ir/pps>

دوفصلنامه علمی

دانش بیماری شناسی گیاهی

(سال نهم، جلد ۱، پاییز و زمستان ۱۳۹۸)

این نشریه بر اساس مجوز شماره ۲۳۴۷۵۵/۳ و تایید اعتبار علمی وزارت علوم، تحقیقات و فناوری و پروانه انتشار شماره ۱۴۸۳۶/۹۰ وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی منتشر می شود.

صاحب امتیاز: دانشگاه یاسوج مدیر مسئول: مهدی صدروی سردبیر: محمد عبداللهی

گروه دبیران	
۱- دکتر سید علی اکبر بهجت‌نیا	استاد بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه شیراز
۲- دکتر سید محسن تقوی	استاد بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه شیراز
۳- دکتر حبیب اله حمزه زرقانی	دانشیار بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه شیراز
۴- دکتر مهدی صدروی	دانشیار بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه یاسوج
۵- دکتر محمد صالحی ابرقوئی	استاد بیماری شناسی گیاهی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی فارس
۶- دکتر محمد عبداللهی	استاد بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه یاسوج
۷- دکتر محمد رضا موسوی	دانشیار بیماری شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت

نشریه علمی معتبر دانش بیماری‌شناسی گیاهی، مقاله های علمی- پژوهشی، علمی- مروری و علمی- ترویجی را که در آنها یافته های نوین علم بیماری‌شناسی گیاهی در زمینه عوامل بیماریزای گیاهان (قارچها، پروکاریوتها، نماتدها، ویروسها، کمبود عناصر غذایی، تنشهای محیطی و انگلهای گل دار) بیماریهای ناشی از آنها و روشهای مدیریت بیماریهای گیاهان، بر اساس زمینه تخصصی، سابقه پژوهشی و یا مطالعات نویسنده(گان) به زبان فارسی و با چکیده انگلیسی، یا به زبان انگلیسی و چکیده فارسی نوشته شده اند و قبلا به هیچ طریق انتشار نیافته، یا همزمان به نشریه های دیگر فرستاده نشده باشند، را با داوری علمی و ادبی پذیرفته و منتشر می کند.

داوران مقاله‌های این جلد
مهدی ارزنلو، ذبیح الله اعظمی ساردویی، فائزه السادات ابطحی، امیررضا امیرمیجانی، مهدی آزادوار، سید محسن تقوی، حبیب اله چاره‌گانی، حبیب‌اله حمزه زرقانی، منوچهر حسینوند، محمد حاجی‌زاده، سمانه سماوات، مهدی صدروی، داود صمصام‌پور، محمد عبداللهی، کوروش عزیزی، سید محمدرضا موسوی، رضا مستوفی‌زاده قلمفرسا، حسین میرزایی نجفقلی، محمد مهدی فقیهی، رضا قادری، موسی نجفی‌نیا، علی ویانی

کارشناس: فاطمه جعفری

آدرس: یاسوج، بلوار دانشجو، دانشگاه یاسوج، دانشکده کشاورزی، دفتر مجله دانش بیماری شناسی گیاهی،

صندوق پستی ۳۵۳، کد پستی : ۷۵۹۱۸۷۴۸۳۱

تلفن: ۰۷۴-۳۱۰۰۶۳۰۸

پست الکترونیک: ijplantpatholsci@yu.ac.ir

آدرس تارنمای نشریه: <http://yujs.yu.ac.ir/pps>

Research Article

Optimal method for production of mycelia biomass of *Ganoderma lucidum* in sugarcane molasses

SAEIDEH AHMADIFAR, SYED MOHSEN HOSSEINI,
EBRAHIM MOHAMMADI GOLTAPPEH✉, AKBAR JAHEDI

Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Received: 09.11.2019

Accepted: 01.02.2020

Ahmadifar S, Hosseini SM, MohammadiGoltapeh E, Jahedi A (2020) Optimal method for production of mycelia biomass of *Ganoderma lucidum* in sugarcane molasses. Plant Pathology Science 9(1):1-14. DOI: 10.2982/PPS.9.1.1.

Abstract

Introduction: *Ganoderma lucidum*, medicinal mushroom, is one of the most effective traditional medicine in East Asia. The mycelium, the spore and the basidiocarp contain about 400 different bioactive compounds with polysaccharides, peptidoglycans and triterpenes as active ingredient groups of medical value. Underwater cultivation is one of the most reliable technologies to produce the industrial biomass of this mushroom, which contains anti-tumor and anti-cancer polysaccharides. Regarding the growth of fungal mycelium, it is related to various environmental factors such as pH, temperature and available nutrients. The aim of this study was to determine the influence of pH, temperature and different concentrations of the carbon and nitrogen sources on the growth rate of fungal biomass in sugar cane molasses. **Materials and Methods:** The first part of the study dealt with the morphological and molecular identification of an Iranian isolate from *G. lucidum*. Then the effects of carbon sources of arabinose, maltose, cellulose and xylose at concentrations of 0.1, 0.2 and 0.3%, and nitrogen sources of yeast extract, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, peptone and K_2HPO_4 at concentrations of 0.2, 0.3 and 0.4%, pH 4, 4.5, 5 and 5.5, and a temperature of 25° C, 28° C, 32 ° C and the number of 2, 3, and 4 inoculum particles of 5 mm² for the production of mycelium biomass of *G. lucidum*, in sugarcane molasses was studied, in completely randomized design experiments with four replicates for each treatment in vitro. **Results:** A comparison of the mean dry weight mycelium of *G. lucidum* produced with different treatments showed the significant differences between the treatments with a probability of 5%. The highest yield of *G. lucidum* was obtained in peptone with concentration of 0.3%, maltose with concentration of 0.2%, pH=5, 3 inoculum particles with 5mm² diameter, at 28°C. **Conclusion:** Sugar cane molasses can be used as a cheap and inexpensive medium for the biomass production of *G. lucidum*. For the first time this study showed that by adding peptone with concentration of 0.3%, maltose with concentration of 0.2%, to sugarcane molasses, with 3 particles of inoculum with 5mm² diameter, in pH=5, and 28°C, the highest biomass of this medicinal mushroom could be produced.

Keywords: Peptone, Immersed cultivation, Maltose, Sugarcane molasses, *Ganoderma*

✉ emgoltapeh@gmail.com

مقاله پژوهشی

روش بهینه تولید زیست توده میسلیومی *Ganoderma lucidum* در ملاس نیشکر

سعیده احمدی‌فر، سید محسن حسینی، ابراهیم محمدی گل‌تپه[✉]، اکبر جاهدی

دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران

پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۲

دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۱۸

احمدی‌فر س، حسینی س م، محمدی‌گل‌تپه ا، جاهدی ا (۱۳۹۸) روش بهینه تولید زیست توده میسلیومی *Ganoderma lucidum* در ملاس نیشکر. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۹(۱): ۱-۱۴.
DOI:10.2982/PPS.9.1.1.

چکیده

مقدمه: قارچ دارویی *Ganoderma lucidum* به‌عنوان یکی از موثرترین محصول‌های طب‌سنتی در شرق آسیا شناخته شده است. بدنه بازیدیوکارب، میسلیوم و اسپور این قارچ حاوی حدود ۴۰۰ ترکیب مختلف زیست فعال به‌همراه پلی‌ساکاریدها، پپتیدوگلیکان‌ها و تری‌ترپن‌ها، به‌عنوان گروه‌های موثر با ارزش دارویی می‌باشند. برای تولید مقیاس بزرگی از زیست‌توده این قارچ حاوی پلی‌ساکاریدهای ضد تومور و سرطان، کشت غوطه‌ور آن یکی از موثق‌ترین فن‌آوری‌ها است. با توجه به اینکه رشد میسلیوم قارچ با عوامل محیطی مختلف مانند pH، دما و مواد مغذی در دسترس آن ارتباط دارد، هدف از این پژوهش تعیین تاثیر pH، دما، غلظت‌های مختلف منبع کربن و نیتروژن بر رشد زیست توده قارچ در محیط ملاس نیشکر بود.

مواد و روش‌ها: بخش اول پژوهش به شناسایی ریختی و مولکولی جدایه ایرانی *G. lucidum* اختصاص داده شد. سپس تاثیر منبع‌های کربن آرابینوز، مالتوز، سلولاز و زایلوز با غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد، منبع-های نیتروژن عصاره مخمر، $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، پپتون و K_2HPO_4 با غلظت‌های ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ درصد، اثر pH ۴، ۴/۵، ۵، ۵/۵، دماهای ۲۵، ۲۸ و ۳۲ درجه سلسیوس و تعداد ۲، ۳ یا ۴ قرص به قطر 5 mm^2 زادمایه، بر تولید زیست توده میسلیومی *G. lucidum* در ملاس نیشکر، در آزمایش‌های در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با چهار تکرار برای هر تیمار در شرایط آزمایشگاهی مطالعه شدند. **یافته‌ها:** مقایسه میانگین وزن خشک میسلیوم تولیدی در تیمارهای مختلف این آزمایش نشان داد که بین تیمارهای مختلف در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بیشترین تولید میسلیومی قارچ با منبع نیتروژن پپتون با غلظت ۰/۳ درصد، منبع کربن مالتوز با غلظت ۰/۲ درصد، pH=5، دمای ۲۸ درجه سلسیوس و افزودن ۳ قرص به قطر 5 mm^2 زادمایه قارچ در محیط مایع ملاس نیشکر بدست آمد. **نتیجه‌گیری:** ملاس نیشکر می‌تواند به‌عنوان یک محیط ارزان و مقرون‌به‌صرفه برای تولید زیست‌توده *G. lucidum* مورد استفاده قرار گیرد. این پژوهش برای نخستین بار نشان داد، که می‌توان با افزودن پپتون با غلظت ۰/۳ درصد، مالتوز با غلظت ۰/۲ درصد، به ملاس نیشکر، با ۳ قرص به قطر 5 mm^2 زادمایه، در pH=5 و دمای ۲۸ درجه سلسیوس بیشترین زیست توده این قارچ دارویی را تولید کرد.

واژگان کلیدی: پپتون، کشت غوطه‌ور، مالتوز، ملاس نیشکر، *Ganoderma*

✉ emgoltapeh@gmail.com

Introduction

مقدمه

بعضی گونه‌های *Ganoderma* به عنوان تولیدکننده طیف وسیعی از محصولات دارویی طبیعی در آسیا و آمریکای شمالی شناخته شده‌اند. بسیاری از پژوهش‌ها به داروهای تولیدی از *Ganoderma lucidum* (Curtis) P.Kars مربوط می‌شود که در طب سنتی در چین و ژاپن مورد استفاده قرار می‌گرفتند (Jong, 1992, et al. 2018, Cor et al. 2007, Boh et al. 2007). بسیاری از گونه‌های این جنس در مناطق نیمه‌گرمسیری و گرمسیری یافت می‌شوند و در شرایط گرم و مرطوب رشد می‌کنند (Pilotti et al. 2004). این قارچ روی بسیاری از درختان مرده و در حال فساد خصوصاً خزان‌دارهایی مانند بلوط، افرا، نارون، ماگنولیا، بید، شاه‌بلوط، سپیدار و غیره قادر به رشد است و در کشورهای شرق آسیا روی درختان جنس *Prunus* رشد می‌کند. *G. lucidum* دارای تنوعی در شش رنگ می‌باشد، اما واریته قرمز به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته و به صورت تجارتي در آمریکای شمالی، چین، تایوان، ژاپن و کره جنوبی کشت می‌شود (Lai et al. 2004). پژوهش‌ها نشان داده که مهم‌ترین اجزای فعال *G. lucidum*، پلی‌ساکارید و اسید گانودریک می‌باشد (Xu et al. 2008). بازیدیوکارپ، میسلیم و اسپور این قارچ حاوی حدود ۴۰۰ ترکیب مختلف زیست فعال به همراه پلی‌ساکاریدها، پپتیدوگلیکان‌ها و تری‌ترپن‌ها می‌باشد (Wachtel-Galor et al. 2011). این قارچ برای درمان و پیشگیری از فشار خون بالا، قندخون، هپاتیت، برونشیت مزمن، آسم، بیماری‌های قلبی، سرطان، HIV و کاهش روند پیرشدن سلول‌ها مفید است (Zarate-Chaves et al. 2013). بعضی پلی‌ساکاریدهای این قارچ دارای خاصیت ضدالتهابی، ضدباکتری، ضدقارچی و ضدویروسی می‌باشند، که می‌توانند از طریق تخمیر بستر جامد (SSF) و یا تخمیر بستر مایع (SLF) به دست آیند (Barbieri et al. 2017, Bao et al. 2001, Wan et al. 2016). با این حال، بسیاری از محیط‌های تخمیر مصنوعی یا نیمه‌مصنوعی هنوز از لحاظ اقتصادی با هزینه کم در دسترس نیستند. سازوکار رشد قارچ در طبیعت به شدت با چسبیدن نوک قارچ به بستر جامد ارتباط دارد. بدین منظور، مقادیر زیادی از پلی‌ساکارید چسبنده قارچ تولید می‌شوند و در نوک سلول‌های ریشه (HypHa) جوان انباشته می‌شوند. برای تولید مقیاس بزرگی از زیست توده (Biomass) این قارچ دارویی و به دست آوردن ترکیبهای دارویی فعال آن، یکی از بهترین فن‌آوری‌ها کشت غوطه‌ور آن است. بسیاری از قارچ‌های دارویی و خوراکی قادر به رشد به شکل زیست توده میسلیم در کشت غوطه‌ور هستند (Wasser et al. 2000). تولید میسلیم قارچ‌های ماکرو در کشت غوطه‌ور برای نخستین بار در سال ۱۹۵۰ صورت گرفت. چندین مزیت جهت کشت غوطه‌ور نسبت به کشت جامد برای تولید اسید گانودریک وجود دارد که شامل بهره‌وری بالا، هزینه‌های پایین و آسان بودن تنظیم شرایط مناسب می‌باشد (Hughes et al. 1958). کشت مایع، توان پیشرفت بیشتری برای تولید ترکیبهای ثانویه نسبت به تولید بازیدیوکارپ دارد. تولید بازیدیوکارپ زمان‌بر بوده و نیاز به فضای بیشتری دارد و نیز کنترل شرایط محیطی بسیار مشکل‌تر از روش کشت مایع (غوطه‌ور) می‌باشد. کشت غوطه‌ور توسط تخمیر یک روش جایگزین برای تولید کارآمد ترکیبهای دارویی قارچ است (Fang and Zhong 2002). سوپرامانی و همکاران (Supramani et al. 2019)، به مطالعه بهینه‌سازی تولید زیست توده، اگزوپلی‌ساکارید و پلی‌ساکارید درون‌سلولی با استفاده از پارامترهای pH، غلظت گلوکز و سرعت حرکت در کشت غوطه‌ور *G. lucidum* پرداختند و میزان ۵/۱۲ گرم بر لیتر زیست توده (در شرایط pH=۴/۰۱ و ۳۲/۰۹ گرم بر لیتر گلوکز در ۱۲۰ دور بر دقیقه)، ۲/۴۹ گرم بر لیتر اگزوپلی‌ساکارید (در شرایط pH=۴، غلظت گلوکز ۲۴/۲۵

گرم بر لیتر در ۱۱۰ دور بر دقیقه) و ۱/۲۵ پلی ساکارید درون سلولی (در شرایط pH=۴، غلظت گلوکز ۴۵/۴۳ گرم بر لیتر در ۱۰۳ دور بر دقیقه) را بدست آوردند. نسرين و همکاران (Nasreen et al. 2005) محیط سیب‌زمینی دکستروز با pH=۵ و دمای ۲۵ °C و به دنبال آن محیط عصاره مالت به همراه شیر قند و گلوکز را جهت بهینه‌سازی رشد زیست توده میسلیم قارچ مورد مطالعه قرار دادند و بالاترین عملکرد زیست توده میسلیم را بعد از ۱۵ روز در محیط سیب‌زمینی دکستروز با میزان ۱/۵۹ گرم بر ۱۰۰ میلی‌لیتر گزارش کردند. پودر زیست توده میسلیم می‌تواند به عنوان فرمول انواع مختلف قرص‌ها و کپسول‌های سلامتی استفاده شود (Chen and Jie 2001). میسلیم قارچ در ضایعات فراوری شده مرکبات، ملاس و ضایعات سولفات و صنایع کاغذ رشد می‌کند (Takashaki 1996). محیط کشتی که میسلیم در آن رشد می‌کند، ممکن است از مواد شیمیایی خالص و بسترهای زیست‌محیطی تصفیه شده ساخته شده باشد. ژو و همکاران (Xu et al. 2008) تاثیر منبع‌های مختلف کربن و نیتروژن را روی رشد میسلیم و تولید اسید گانودریک با استفاده از قارچ *G. lucidum* مورد مطالعه قرار دادند و یافته‌ها آنها حاکی از این بود که گلوکز و پپتون دارای صرفه اقتصادی جهت تولید زیست توده میسلیم هستند و آرد ذرت (۲۰/۹۳ گرم بر لیتر) و پودر سویا (۶/۴۴ گرم بر لیتر) جهت تولید اسید گانودریک نیز مناسب می‌باشند. کشت قارچ با هدف تولید بازیدیوکارپ یک فرایند طولانی‌مدت است، که ظهور بازیدیوکارپ‌ها برای اولین بار بسته به نوع گونه و بستر، یک تا چند ماه طول می‌کشد. درمقابل، رشد قارچ خالص در شرایط غوطه‌ور در محیط کشت مایع، باعث افزایش سرعت رشد و عملکرد زیست توده طی چند روز می‌شود (Wasser et al. 2000). با توجه به دلایل ذکر شده، همواره مطالعه مولفه‌های محیط‌های مختلف و عوامل محیطی برای رشد میسلیم *G. lucidum* ضروری می‌باشد. ضایعات کشاورزی همچون ملاس نیشکر می‌تواند به عنوان یک محیط ارزان و مقرون به صرفه برای تولید زیست توده مورد استفاده قرار گیرد. از آنجا که رشد میسلیم با عوامل محیطی مختلف مانند pH و دما و مواد مغذی در دسترس آن ارتباط دارد، این پژوهش برای بررسی تاثیر pH، دما، غلظت‌های مختلف منبع کربن و منبع نیتروژن مقدار زادمایه بر رشد زیست توده میسلیم جدایه ایرانی این قارچ انجام شد. کشت غوطه‌ور دارای پتانسیل بالایی جهت تولید میسلیم بالا در یک فضای فشرده و در زمان کوتاه با احتمال آلودگی کم می‌باشد، از این رو در این آزمایش از محیط کشت غوطه‌ور حاصل از عصاره ملاس نیشکر استفاده شد.

Materials and Methods

مواد و روش‌ها

جدایه قارچ و آماده‌سازی محیط کشت

تعداد ۱۵ جدایه قارچ *Ganoderma lucidum* از پارک جنگلی نور واقع در استان مازندران جمع‌آوری شد و بعد از شناسایی مولکولی جهت بهینه‌سازی عملکرد زیست توده میسلیم مورد استفاده قرار گرفت. با استفاده از تیغ اسکالپر زیر هود لامینار قطعه کوچکی از بافت قارچ بریده شد و جهت رشد میسلیم روی محیط کشت تجارتي سیب زمینی دکستروز آگار (PDA) در دمای ۲۶ درجه سلسیوس به مدت پنج روز داخل انکوباتور قرار گرفت. در ادامه جهت مایه‌زنی برای محیط کشت غوطه‌ور، محیط دارای میسلیم به مدت دو هفته در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد. محیط کشت مورد استفاده شامل عصاره ملاس نیشکر بود که حاوی ۳۵ درصد ساکارز، ۱۰ درصد قندهای تبدیل شده (گلوکز و فروکتوز)، ۲/۵ درصد سایر کربوهیدرات‌ها، ۴/۳

درصد پروتئین خام، ۰/۰۶ درصد چربی خام، ۹/۶ درصد خاکستر، ۴/۶ درصد نمک، ۲۵ درصد آب و ۸/۹ درصد یون‌های فلزی مانند کلسیم، پتاسیم، سدیم، آهن، منیزیم و مس بود. محیط، در فشار ۱/۴ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه به مدت ۲۰ دقیقه سترون شد (Kotzamanidis et al. 2002, Roukas 1998).

شناسایی ریختی و مولکولی *Ganoderma lucidum*

در چارچوب مطالعه حاضر، برای ارزیابی اولیه جهت تایید هویت مولکولی قارچ، شناسایی مشخصات ریختی یک روش کلی مفید در نظر گرفته شد. تمام مشخصات ریختی با استفاده از میکروسکوپ نوری تعیین شدند. بخش نازکی از بازیدیوکارپ هر نمونه جدا شد و پس از خیساندن در آب، هر اسپور زیر میکروسکوپ نوری الیمپوس مدل BX51 (Olympus BX51, Dic Nomarski, Japan) مطالعه و با استفاده از کلیدهای شناسایی معتبر، گونه آن شناسایی شد (Moradali et al. 2007, Steyaert 1972). مشخصات ریخت‌شناسی میکرو و ماکرو کلاهک و میسلیوم از جمله شکل، رنگ، تراکم، بافت، بدنه میوه، سرعت رشد، مورد مطالعه قرار گرفت. به‌طور کلی، وجود DNA خالص گونه‌های مختلف قارچ به‌منظور انجام مراحل استخراج و کار با PCR ضروری است. استخراج DNA با استفاده از روش CTAB توصیف شده توسط روگر و بندیک (Roger and Bendich 1985) با اندکی تغییر انجام شد. تکثیر قطعه‌های از DNA، با آغازگرهای اختصاصی GSR: TATCGTACAGGTTCTCGTG و GSF: CCCTAAACCTCTCAAAGTCA و برنامه حرارتی: ۹۴ درجه سلسیوس برای مدت زمان ۵ دقیقه، ۹۴ درجه سلسیوس برای ۳۰ ثانیه، ۵۶ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سلسیوس برای ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سلسیوس برای مدت زمان ۵ دقیقه در ۳۰ چرخه انجام شد. سپس برای مشاهده محصولات واکنش PCR، الکتروفورز با استفاده از ژل آگارز یک درصد انجام شد.

آزمایش اثر متقابل غلظت و نوع منبع‌های نیتروژن بر تولید زیست توده میسلیوم قارچ در ملاس نیشکر

برای مطالعه بهینه‌سازی عملکرد رشد میسلیوم از منبع‌های نیتروژن عصاره مخمر، $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، پیتون و K_2HPO_4 با غلظت‌های ۰/۲ درصد، ۰/۳ و ۰/۴ درصد استفاده شد و در ادامه هر یک از منبع‌های نیتروژن با غلظت مشخص به ارلن‌های (حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر) حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت عصاره ملاس نیشکر با ۴ تکرار اضافه شدند و با ۳ قرص 5 mm^2 از میسلیوم قارچ تلقیح شدند و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ روز در ۱۳۰ دوربردقیقه در دستگاه لرزا انکوباتور (Shaker incubator) قرار گرفتند.

آزمایش اثر متقابل غلظت‌ها و نوع منبع‌های کربن بر تولید زیست توده میسلیوم قارچ در ملاس نیشکر

منبع‌های کربن شامل آرابینوز، مالتوز، سلولاز و زایلوز با غلظت‌های ۰/۱ درصد، ۰/۲ و ۰/۳ درصد جهت رشد میسلیوم قارچ مورد استفاده قرار گرفتند. هر یک از منبع‌های کربن با غلظت مشخص به ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت عصاره ملاس نیشکر با ۴ تکرار اضافه شدند و با ۳ قرص 5 mm^2 از میسلیوم قارچ تلقیح شدند و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ روز در ۱۳۰ دوربردقیقه در دستگاه لرزا انکوباتور قرار گرفتند.

آزمایش اثر pH بر تولید زیست توده میسلیم قارچ در ملاس نیشکر

pH های هر ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط عصاره ملاس نیشکر با استفاده از اسید کلریدریک نیم مولار و سود یک مولار در ۴، ۴/۵، ۵، ۵/۵ با چهار تکرار برای هر تیمار تنظیم گردیدند. محیط، با فشار ۱/۴ اتمسفر و دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس سترون شدند. بعد از خنک شدن محیط در دمای اتاق ۳ قرص 5 mm^2 از میسلیم به محیط‌ها تلقیح شد و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ روز با ۱۳۰ دوربر دقیقه در دستگاه لرزا انکوباتور قرار گرفتند.

آزمایش اثر دما بر تولید زیست توده میسلیم قارچ در ملاس نیشکر

ارلن‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری محیط سترون شده عصاره ملاس نیشکر آماده شدند و ۳ قرص 5 mm^2 زادمایه قارچ به هر چهار تکرار آنها اضافه شدند. ارن‌ها در دماهای ۲۵، ۲۸ و ۳۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ روز با ۱۳۰ دوربر دقیقه در دستگاه لرزا انکوباتور قرار گرفتند.

تأثیر میزان زادمایه اولیه قارچ بر تولید زیست توده میسلیم قارچ در ملاس نیشکر

ارلن‌های ۱۰۰ میلی‌لیتری محیط سترون شده عصاره ملاس نیشکر ۲، ۳ یا ۴ قرص 5 mm^2 زادمایه قارچ با چهار تکرار برای هر تیمار، اضافه شدند. ارن‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ روز با ۱۳۰ دور بر دقیقه در دستگاه لرزا انکوباتور قرار گرفتند.

برداشت زیست توده میسلیم قارچ در ملاس نیشکر در هر آزمایش

بعد از ۱۰ روز، محیط کشت حاوی میسلیم هر محیط به صورت جداگانه توسط کاغذ واتمن فیلتر شد تا یک کاغذ شفاف بدست آید. میسلیم دو مرتبه با آب مقطر شسته شد و درون آون در دمای ۵۰ درجه سلسیوس در طول شب قرار گرفت تا زمانی که یک وزن خشک ثابت بدست آمد (Feng et al. 2010). وزن خشک میسلیم با استفاده از ترازوی دیجیتالی و بر حسب میلی‌گرم بر ۱۰۰ میلی‌لیتر ($\text{mg}/100\text{ml}$) اندازه‌گیری و ثبت شد.

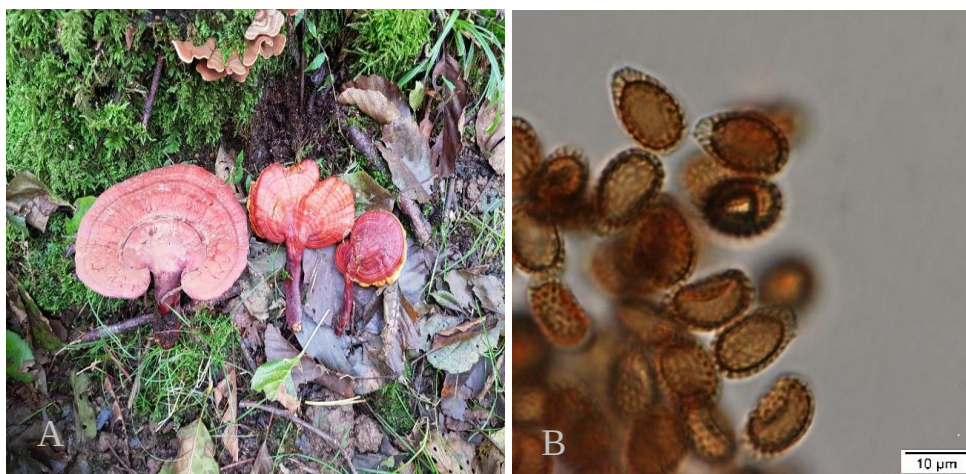
داده‌های هر آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SPSS 24 در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف (آزمون K-S یا آزمون KS) مطالعه شدند و همگن بودن واریانس در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون ANOVA یک‌طرفه و با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

Results

یافته‌ها

خصوصیات ریختی و مولکولی جدایه قارچ *Ganoderma lucidum*

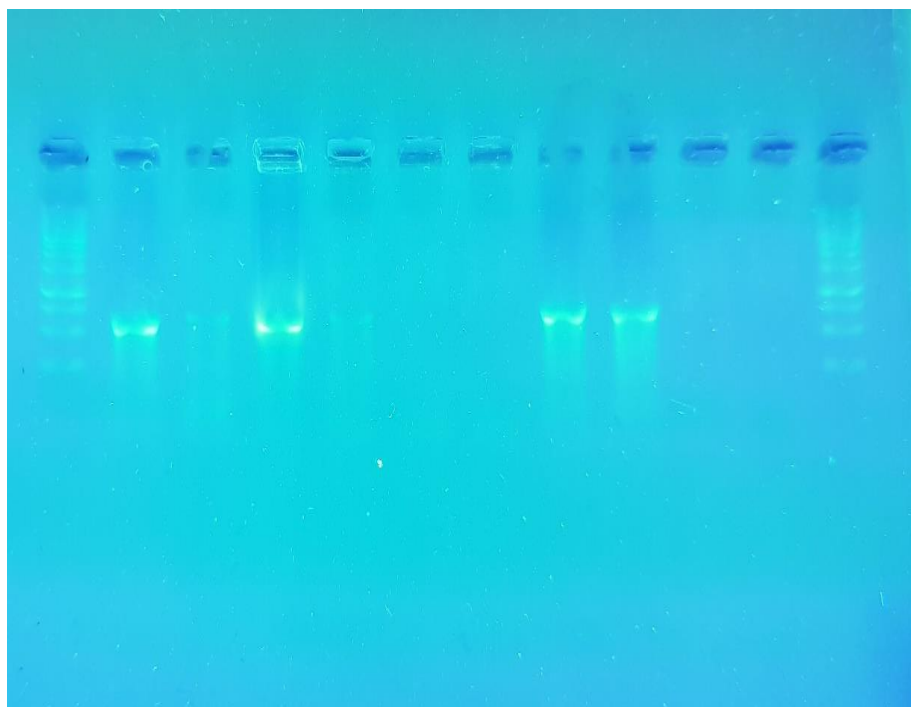
میسلیم قارچ سفید رنگ، با رشد خطی متراکم و بافت سفت در حین رشد بود. کلاهک بازیدیوکارپ به شکل کلیه‌ای، بی‌پایه یا چسبیده به پایه به شکل مرکزی، بادبزی شکل با اندازه‌های مختلف $15 \times 12/2 \times 3/2$ سانتی‌متر بود. حاشیه کلاهک به رنگ زرد یا سفید بود و در نمونه‌های بالغ قرمز یا قهوه‌ای با سطح کلاهک



شکل ۱. مشخصات ریختی قارچ *Ganoderma lucidum*: A. بازیدیوکarp، B. بازیدیوسپورها.
Figure 1. Morphological characteristics of *Ganoderma lucidum*: A. Basidiocarp, B. Basidiospores.

براق بود. علاوه بر این بازیدیوسپورها تخم‌مرغی شکل، دوجداره، بیضی شکل و قهوه‌ای با اندازه $14-17 \times 5-10$ میکرومتر بودند (شکل ۱).

مشخصات این گونه با ویژگی‌های ذکر شده در منابع Liu, Badalyan et al. 2015, Güler et al. 2011, et al. 2017, Keypour et al. 2014 مطابقت داشت. در ادامه بر اساس کارهای مولکولی گونه *Ganoderma lucidum* باند ۵۶۰ bp را تکثیر کرده و شناسایی ریخت شناسی را تایید کرد (شکل ۲).



شکل ۲. شناسایی گونه *Ganoderma lucidum* با استفاده از آغازگرهای اختصاصی GSF و GSR.
Figure 2. Identification of *Ganoderma lucidum* species using GSF and GSR specific primers.

اثر متقابل منبع‌های نیتروژن و غلظت آنها بر وزن خشک میسلیوم تولیدی قارچ در ملاس نیشکر مقایسه میانگین وزن خشک میسلیوم تولیدی در تیمارهای مختلف این آزمایش نشان داد که بین تیمارهای مختلف در سطح احتمال ۵ درصد بین آنها اختلاف معنی‌داری وجود دارد. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود بالاترین وزن خشک میسلیوم در منبع نیتروژن پپتون با غلظت ۰/۳ درصد، ۲۶۵/۵۸ mg/100ml بدست‌آمد در حالی که پایین‌ترین وزن خشک میسلیوم در منبع نیتروژن $Mgso_4.7H_2O$ با غلظت ۰/۲ درصد، ۲۲۱ mg/100ml مشاهده شد.

اثر متقابل منبع‌های کربن و غلظت آنها بر وزن خشک میسلیوم تولیدی قارچ در ملاس نیشکر برای انتخاب بهترین منبع کربن برای رشد میسلیوم منبع‌های مختلف شامل: آرابینوز، مالتوز، سلولاز و زایلوز با غلظت‌های موردنظر به محیط عصاره ملاس نیشکر اضافه شد. همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، اثر متقابل نوع کربن و غلظت بر وزن خشک میسلیوم در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری دارند. بیشترین وزن خشک میسلیوم برابر با ۳۰۸/۵۰ mg/100ml در تیمار حاوی قند مالتوز با غلظت ۲ درصد و کمترین وزن خشک میسلیوم در تیمار قند زایلوز با غلظت ۱ درصد مشاهده شد.

اثر pH و دما بر وزن خشک میسلیوم تولیدی قارچ در ملاس نیشکر حداکثر وزن خشک زیست توده میسلیوم (۳۰۳/۷۵ mg/100ml) در pH=۵ و به دنبال آن pH=۴/۵ دارای وزن خشک زیست توده ۳۰۰/۵ mg/100m می‌باشد. علاوه بر این حداکثر وزن خشک زیست توده میسلیوم با میزان ۲۸۵/۲۵ mg/100ml در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در حالی که حداقل وزن خشک زیست توده میسلیوم با میزان ۲۵۸ mg/100ml در دمای ۳۲ سلسیوس مشاهده شد.

جدول ۱. اثر متقابل منبع‌های نیتروژن و غلظت‌های مختلف آنها بر وزن خشک میسلیوم تولیدی *Ganoderma lucidum*.

Table 1. Interaction of nitrogen sources and their different concentrations on dry weight of mycelium produced by *Ganoderma lucidum*.

Nitrogen source	Concentration (%)	Mycelium dry weight (mg/100ml)
Peptone	0.2	244.50 dc
Yeast extract	0.3	264.50 b
$Mgso_4.7H_2O$	0.4	258 b
K_2Hpo_4	0.2	243 dc
Peptone	0.3	292.25 a
Yeast extract	0.4	264.50 b
$Mgso_4.7H_2O$	0.2	221 e
K_2Hpo_4	0.3	262 b
Peptone	0.4	264.50 b
Yeast extract	0.2	239.25 d
$Mgso_4.7H_2O$	0.3	253 c
K_2Hpo_4	0.4	259.75 b

جدول ۲. اثر متقابل منبع‌های کربن و غلظت‌های آنها بر وزن خشک میسلیوم تولیدی *Ganoderma lucidum*.

Table 2. Interaction of carbon sources and their concentrations on dry weight of mycelium produced by *Ganoderma lucidum*.

Carbon source	Concentration (%)	Mycelium dry weight (mg/100ml)
Arabinose	1	248.50 fe
Maltose	2	308.50 a
Cellulase	3	275 c
Xylose	1	246.25 f
Arabinose	2	284.25 b
Maltose	3	287.75 b
Cellulase	1	259.25 d
Xylose	2	260.50 d
Arabinose	3	275.50 c
Maltose	1	258 d
Cellulase	2	273 c
Xylose	3	256 ed

اثر مقدار زاد مایه بر وزن خشک میسلیوم تولیدی قارچ در ملاس نیشکر
اندازه بهینه زادمایه قارچ جهت تولید حداکثر وزن خشک میسلیوم به میزان ۲۵۹/۵ mg/100ml در ارلن دارای ۳ قرص ۵ mm² بدست آمد در حالی که کمترین وزن خشک میسلیوم در ارلن دارای ۲ قرص ۵ mm² به میزان ۲۴۵ mg/100ml مشاهده شد (شکل ۳).



شکل ۳. توده میسلیومی قارچ *Ganoderma leucidum* در محیط ملاس نیشکر به ترتیب از چپ به راست شامل: ۲ قرص، ۳ قرص و ۴ قرص ۵mm².

Figure 3. Mycelium mass of *Ganoderma leucidum* in sugar cane molasses medium from left to right, respectively: 2 pieces, 3 pieces and 4 pieces of 5mm².

بحث

Discussion

ملاس نیشکر حاوی عناصر کمیاب و ویتامین‌هایی مانند تیامین، ریبوفلاوین، پیریدوکسین و نیاسینامید می‌باشد که می‌تواند به عنوان منبع فاکتورهای رشد برای تولید زیست توده میسلیومی قارچها استفاده شود (Crueger and Crueger 1984 White 1954). به طور کلی مکمل بستر با افزودنی های غنی از نیتروژن باعث افزایش عملکرد رشد قارچ در حین کشت می شود. از طرف دیگر استفاده از منابع های نیتروژن آلی می‌دهند زیرا امکان عدم تولید بعضی از آمینواسیدهای ضروری در منابع نیتروژن معدنی در محیط کشت غوطه‌ور قارچ‌های ماکرو وجود دارد (Shih et al. 2006). در این آزمایش برای توسعه مناسب کشت غوطه‌ور گانودرما لوسیدم از ۴ منبع نیتروژن استفاده شد. پپتون از مواد پروتئینی تشکیل شده است. اساسا پپتون‌ها حاوی مشتقات پروتئین از جمله پلی‌پپتید، دی‌پپتید و اسیدهای آمینه می‌باشد (Priatni et al. 2017). در پژوهش حاضر بیشترین عملکرد زادمایه از منبع نیتروژن پپتون حاصل شد. علت این نتیجه را می‌توان به این موضوع نسبت داد که پروتئین یک منبع نیتروژن است که از رشد میسلیوم حمایت کرده و باعث تحریک رشد قارچ در دو حالت کشت غوطه‌ور و جامد می‌شود (Feng et al. 2017, Postemsky et al. 2014). ژو و همکاران (Xu et al. 2008) نیز بالاترین وزن زیست توده را در منبع نیتروژن پپتون ($19/21 \pm 0/36 \text{ g/l}$) کسب کردند.

اضافه کردن منابع کربن از جمله گلیسرول و گلوکز در تقویت زادمایه بسیار موثر می‌باشد (Yee 2015). سهم منابع مختلف کربن جهت رشد نه تنها به نوع گونه بستگی دارد بلکه به قابلیت انتقال مناسب مونوساکارید به غشای درون سلول نیز وابسته است (Ozmihci and Kargi 2007). علاوه بر این، در کنار قندها، ملاس چغندر حاوی مقداری ویتامین و مواد معدنی مانند پتاسیم، سدیم و کلسیم است که به افزایش تولید زادمایه کمک می‌کند (Zhang et al. 2015). شه و همکاران (Shah et al. 2018) بالاترین وزن زیست توده میسلیوم قارچ ($307 \pm 3.97 \text{ mg/100 mL}$) را در قند گلوکز با غلظت ۱/۵ درصد بدست آوردند. برای افزایش زیست توده میسلیوم، استفاده کردن از محیط کربن و نیتروژن به جای فرمول‌های مرکب از مواد مصنوعی مناسب‌تر است (Xu et al. 2008). یافته‌های این پژوهش با مطالعه سوپرو و همکاران (Suberu et al. 2013) که بهترین عملکرد زیست توده میسلیوم *G. lucidum* را با قند مالتوز کسب کردند سازگار است.

pH محیط روی سطح جذب میسلیوم تاثیر می‌گذارد، زیرا قابلیت استفاده از مواد به شکل محلول را برای جذب تعیین می‌کند (Galli et al. 2003). اساسا مقدار pH بهینه به عوامل مختلفی از جمله نوع جدایه مورد استفاده بستگی دارد (Xu and Yun, 2003). pH ابتدایی تخمیر مایع، یک پارامتر مهم برای رشد میسلیوم است، زیرا ممکن است بر عملکرد غشای سلولی قارچ، مورفولوژی و ساختار سلولی و استفاده از نیازهای تغذیه‌ای مختلف تأثیر بگذارد. گزارش شده است که pH اسیدی برای رشد و تولید زیست توده میسلیوم گونه‌های مختلف آسکومیست‌ها و بازیدیومیست‌ها مناسب‌تر است (Shih et al. 2006). نتیجه آزمایش اثر pH بر وزن خشک میسلیوم تولیدی *Ganoderma lucidum* در مطابقت با گزارش شه و همکاران (۲۰۱۸) می‌باشد که حداکثر وزن خشک زیست توده میسلیوم را به میزان $3/18 \pm 291$ در $\text{pH}=5$ بدست آوردند.

Conclusion

نتیجه گیری

کشت غوطه‌ور دارای پتانسیل بالایی برای افزایش تولید میسلیم قارچ *G. lucidum* در مدت زمان کوتاه می‌باشد، از همین رو این پژوهش با هدف گزینش بهترین محیط جهت تولید زیست توده میسلیمی این قارچ در شرایط کشت غوطه‌ور در ملاس نیشکر انجام شد. برای کاربردهای اقتصادی و مقرون به صرفه در زمینه تولیدات دارویی، کشت با استفاده از مواد ارزان قیمت نقش به سزایی دارد. به علاوه، با توجه به اینکه رشد میسلیم تحت تاثیر عوامل محیطی مختلف همچون دما و مواد مغذی می‌باشد، تلاش برای بررسی عوامل مختلف که بر رشد زیست توده میسلیم قارچ اثر می‌گذارد حائز اهمیت است. ضایعات کشاورزی همچون ملاس نیشکر می‌تواند به عنوان یک محیط ارزان و مقرون به صرفه برای تولید زیست توده این قارچ مورد استفاده قرار گیرد. تا کنون گزارش مبنی بر استفاده از محیط ملاس نیشکر برای تولید زیست توده میسلیم از ایران گزارش نشده است. یافته‌های این پژوهش حاکی از آن است که با بهینه‌سازی شرایط کشت در محیط ملاس نیشکر می‌توان میزان تولید زیست توده قارچ *G. lucidum* را افزایش داد. با توجه به یافته‌ها پژوهش حاضر، علاوه بر ویتامین و مواد معدنی موجود در ملاس نیشکر، اضافه کردن مکمل‌هایی همچون منبع‌های مختلف کربن و نیتروژن باعث افزایش عملکرد در زادمایه این قارچ دارویی می‌شود بدین صورت که بیشترین عملکرد زادمایه در منبع نیتروژن پپتون در غلظت ۳/۰ درصد به میزان ۵ mg/100ml، حداکثر عملکرد در منبع کربن مالتوز در غلظت ۲/۰ درصد به میزان ۵ mg/100ml، pH ۳/۰۸، بهینه ۵ (۳۰۰/۵ mg/100ml)، دمای مناسب ۲۸ درجه سلسیوس (۲۸۵/۲ mg/100ml) و ۳ قرص ۵ mm² بیشترین میزان عملکرد (۲۵۹/۵ mg/100ml) زادمایه را به خود اختصاص دادند.

References

منابع

1. Tavana M, Azizi M, Farsi M, Banesh F (2012) Optimization of medium composition for efficient production of mycelial biomass and extracellular polysaccharides in the submerged culture of *Ganoderma lucidum*. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 28(3): 423-433.
2. Bao X, Fang J, Li X (2001) Structural characterization and immunomodulating activity of a complex glucan from spores of *Ganoderma lucidum*. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry 65(11):2384-2391.
3. Barbieri A, Quagliariello V, Del Vecchio V, Falco M, Luciano A, Amruthraj N, Arra C (2017) Anticancer and anti-inflammatory properties of *Ganoderma lucidum* extract effects on melanoma and triple-negative breast cancer treatment. Nutrients 9(3):210. <https://doi.org/10.3390/nu9030210>
4. Boh B, Berovic M, Zhang J, Zhi-Bin L (2007) *Ganoderma lucidum* and its pharmaceutically active compounds. Biotechnology Annual Review 13: 265-301.
5. Chen T, Jie Z X (2001) Taurine in the spores and extract powder of log cultivated *Ganoderma lucidum*. Acta Edulis Fungi 8: 45-46.
6. Cör D, Knez Ž, Knez Hrnčič M (2018) Antitumour, antimicrobial, antioxidant and antiacetylcholinesterase effect of *Ganoderma Lucidum* terpenoids and polysaccharides: A review. Molecules 23(3):649.

7. Crueger W, Crueger A (1984) Biotechnology, A Text Book of Industrial Microbiology. Science Tech. Inc., Madison, Wisconsin 180(1):308.
8. Fang Q H, Zhong J J (2002) Effect of initial pH on production of ganoderic acid and polysaccharide by submerged fermentation of *Ganoderma lucidum*. Process Biochemistry 37(7):769-774.
9. Feng Y L, Li W Q, Wu, X Q, Cheng J W, Ma S Y (2010) Statistical optimization of media for mycelial growth and exo-polysaccharide production by *Lentinus edodes* and a kinetic model study of two growth morphologies. Biochemical Engineering Journal 49(1):104-112.
10. Hughes D H, Lynch D L, Somers G F (1958) Mushroom analysis, chromatographic identification of the amino acids and carbohydrates in the cultivated mushroom *Agaricus Campestris* L. ex-Fries. Journal of Agricultural and Food Chemistry 6(11):850-853.
11. Jonathan S G, Fasidi I O (2001) Effect of carbon, nitrogen and mineral sources on growth of *Psathyrella atroumbonata* (Pegler), a Nigerian edible mushroom. Food Chemistry 72(4): 479-483.
12. Jong S C, Birmingham J M (1992) Medicinal benefits of the mushroom *Ganoderma lucidum*. Advances in Applied Microbiology. 37: 101-134.
13. Kotzamanidis C H, Roukas T, Skaracis G (2002) Optimization of lactic acid production from beet molasses by *Lactobacillus delbrueckii* NCIMB 8130. World Journal of Microbiology and Biotechnology 18(5): 441-448.
14. Lai T, Gao Y, Zhou S (2004) Global marketing of medicinal Ling Zhi mushroom *Ganoderma lucidum* (W. Curt.: Fr.) Lloyd (*Aphyllophoromycetidae*) products and safety concerns. International Journal of Medicinal Mushrooms 6(2):189-194.
15. Lee B C, Bae J T, Pyo H B, Choe T B, Kim S W, Hwang H J, Yun J W (2004) Submerged culture conditions for the production of mycelial biomass and exopolysaccharides by the edible Basidiomycete *Grifola frondosa*. Enzyme and Microbial Technology 35(5):369-376.
16. Nasreen Z, Kausar T, Nadeem M, Bajwa R (2005) Study of different growth parameters in *Ganoderma lucidum*. Micología Aplicada Internacional 17(1): 5-8.
17. Pilotti C A, Sanderson F R, Aitken E A, Armstrong W (2004) Morphological variation and host range of two *Ganoderma* species from Papua New Guinea. Mycopathologia 158(2): 251-265.
18. Roukas T (1998) Pretreatment of beet molasses to increase pullulan production. Process Biochemistry 33(8): 805-810.
19. Shah Pooja, Modi A (2018) Optimization of Culture Conditions for Biomass Production of *Ganoderma lucidum*. International Journal of Current Microbiology (7)2:1882-1889.
20. Shih L, Pan K, Hsieh C (2006) Influence of nutritional components and oxygen supply on the mycelial growth and bioactive metabolites production in submerged culture of *Antrodia cinnamomea*. Process Biochemistry 41(5):1129-1135.

21. Suberu H A, Lateef A A, Bello I M, Daudu O A Y (2013) Mycelia biomass yield of *Ganoderma lucidum* mushroom by submerged culture. Nigerian Journal of Technological Research 8(2):64-67.
22. Supramani S, Ahmad R, Ilham Z, Annuar M S M, Klaus A, Wan-Mohtar W A A Q (2019) Optimisation of biomass, exopolysaccharide and intracellular polysaccharide production from the mycelium of an identified *Ganoderma lucidum* strain QRS 5120 using response surface methodology. AIMS Microbiology 5(1):19-38.
23. Takashaki M (1996) Studies on bioactive substances and medical effect of Reishi (*Ganoderma lucidum*). Foods and Food Ingredients Journal of Japan 167:69-85.
24. Wachtel-Galor S, Yuen J, Buswell J A, Benzie I F (2011) *Ganoderma lucidum* (Lingzhi or Reishi). In Herbal Medicine Biomolecular and Clinical Aspects. 2nd edition. CRC Press/Taylor and Francis.
25. Wan W A A Q I, Latif N A, Harvey L M, McNeil B (2016) Production of exopolysaccharide by *Ganoderma lucidum* in a repeated-batch fermentation. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 6:91-101.
26. Wasser S P, Sokolov D, Reshetnikov S V, Timor-Tismenetsky M (2000) Dietary supplements from medicinal mushrooms: diversity of types and variety of regulations. International Journal of Medicinal Mushrooms. 2(1):1-19.
27. White J (1954) Yeast Technology. Chapman and Hall, Ltd., London.
28. Xu P, Ding Z Y, Qian Z, Zhao C X, Zhang K C (2008) Improved production of mycelial biomass and ganoderic acid by submerged culture of *Ganoderma lucidum* SB97 using complex media. Enzyme and Microbial Technology 42(4):325-331.
29. Zárte-Chaves C A, Romero-Rodríguez M C, Niño-Arias F C, Robles-Camargo J, Linares-Linares M, Rodríguez-Bocanegra M X, Gutiérrez-Rojas I (2013) optimizing a culture medium for biomass and phenolic compounds production using *Ganoderma lucidum*. Brazilian Journal of Microbiology 44(1):215-223.
30. Moradali MF, Hedjaroude G-A, Mostafavi H, Abbasi M, Ghods S, Sharifi Tehrani A (2007) The genus *Ganoderma* (Basidiomycota) in Iran. Mycotaxon 99:251-69.
31. Steyaert RL (1972) Species of *Ganoderma* and related genera mainly of the Bogor and Lieden herbaria. Persoonia 7:55-118.
32. Rogers S O, Bendich A J (1985) Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. Plant Molecular Biology 5(2):69-76.
33. Liu S R, Ke B R, Zhang W R, Liu X R, Wu X P (2017) Breeding of new *Ganoderma lucidum* strains simultaneously rich in polysaccharides and triterpenes by mating basidiospore-derived monokaryons of two commercial cultivars. Scientia Horticulturae 216:58-65.

34. Güler P, Kutluer F, Kunduz İ (2011) Screening to Mycelium Specifications of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst (Reishi). Hacettepe Journal of Biology and Chemistry 39(4): 397-401.
35. Badalyan S M, Shnyreva A V, Lotti M, Zambonelli A (2015) Genetic resources and mycelial characteristics of several medicinal polypore mushrooms (Polyporales, Basidiomycetes). International Journal of Medicinal Mushrooms 17(4):371-384.
36. Galli E F D M, Di Mario F, Rapana P, Lorenzoni P, Angelini R (2003) Copper biosorption by *Auricularia polytricha*. Letters in Applied Microbiology. 37(2):133-137.
37. Xu, C P, Yun J W (2003) Optimization of submerged- culture conditions for mycelial growth and exo- biopolymer production by *Auricularia polytricha* (wood ears fungus) using the methods of uniform design and regression analysis. Biotechnology and Applied Biochemistry 38(2):193-199.
38. Feng J, Zhang J S, Feng N, Yan M Q, Yang Y, Jia W, Lin C C (2017) A novel *Ganoderma lucidum* G0119 fermentation strategy for enhanced triterpenes production by statistical process optimization and addition of oleic acid. Engineering in Life Sciences 17(4): 430-439.
39. Postemsky P D, Delmastro S E, Curvetto N R (2014) Effect of edible oils and Cu (II) on the biodegradation of rice by-products by *Ganoderma lucidum* mushroom. International Biodeterioration and Biodegradation 93:25-32.
40. Priatni S, Kosasih W, Budiwati T A, Ratnaningrum D (2017) Production of peptone from boso fish (*Oxyeleotris marmorata*) for bacterial growth medium. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 60(1):12009.
41. Yee W (2015) Feasibility of various carbon sources and plant materials in enhancing the growth and biomass productivity of the freshwater microalgae *Monoraphidium griffithii* NS16. Bioresource Technology 196:1-8.
42. Ozmihci S, Kargi F (2007) Kinetics of batch ethanol fermentation of cheese-whey powder (CWP) solution as function of substrate and yeast concentrations. Bioresource Technology 98(16): 2978-2984.
43. Zhang Y Y, Bu Y F, Liu J Z (2015) Production of L-ornithine from sucrose and molasses by recombinant *Corynebacterium glutamicum*. Folia Microbiologica 60(5): 393-398.

Research Article

Report of five species of plant parasitic nematodes associated with hawthorn forest trees in western Iran

ZEINAB ZOLFAGHARI, EADI BAZGIR[✉], AREZOO NAGHAVI

Department of Plant Protection, Lorestan University, Khorramabad, Iran

Received: 07.01.2020

Accepted: 09.03.2020

Zolfaghari Z, Bazgir E, Naghavi A (2020) Report of five species of plant parasitic nematodes associated with hawthorn forest trees in western Iran. Plant Pathology Science 9(1):15-29. DOI: 10.2982/PPS.9.1.15

Abstract

Introduction: The Hoplolaimidae family is one of the largest and economically most important families of the order/ infraorder Tylenchida / Tylenchomorpha. The members of this family spread all over the world and can be found under different climatic conditions. Some species in this family are serious plant parasites and significantly reduce crop yields. **Materials and Methods:** In the forests of Khorramabad city in western Iran 70 samples were collected from the soil around the roots of hawthorn trees in the period of 2017-2019. After recording the properties of each sample, they were transferred to a laboratory and cooled at 4 °C. The nematodes were extracted from the soil using the tray method, then fixed and transferred to pure glycerin, and permanent slides were made. The morphological and morphometric properties of the nematodes were examined using a light microscope equipped with a Dino Capture camera. The nematode species were identified using scientific identification keys. **Results:** Five species of plant parasitic nematodes belonging to two genera of Hoplolaimidae were identified in this study, including *Rotylenchus goodeyi*, *Helicotylenchus canadensis*, *H. digonicus*, *H. vulgaris* and *H. tunisiensis*. **Conclusion:** *R. goodeyi* is reporting as a new record for the nematode fauna of Iran. Morphometrical and morphological characteristics of these nematodes are described here.

Keywords: Hawthorn, *Helicotylenchus*, Hoplolaimidae, Nematode, *Rotylenchus*

[✉] Bazgir.ei@lu.ac.ir

مقاله پژوهشی

معرفی پنج گونه نماتد انگل گیاهی از درختان جنگلی زالزالک غرب ایران

زینب ذوالفقاری، عیدی بازگیر[✉]، آرزو نقوی

گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد

دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۱۷

پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۱۹

ذوالفقاری ز، بازگیر ع، نقوی ا (۱۳۹۸) معرفی پنج گونه نماتد انگل گیاهی از درختان جنگلی زالزالک غرب ایران. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۹(۱): ۲۹-۱۵. DOI: 10.2982/PPS.9.1.15

چکیده

مقدمه: خانواده Hoplolaimidae از بزرگ‌ترین و از نظر اقتصادی یکی از مهم‌ترین خانواده‌های راسته/ فوق بالاخانواده Tylenchomorpha /Tylenchida محسوب می‌گردد. اعضای این خانواده در همه نقاط دنیا پراکنده بوده و در انواع اقلیم‌ها و شرایط آب و هوایی یافت می‌شوند. بعضی گونه‌های این خانواده انگل جدی گیاه بوده و با حمله به آنها باعث کاهش قابل توجه محصول در آن‌ها می‌شوند. **مواد و روش‌ها:** طی سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۸، تعداد ۷۰ نمونه خاک از فراریشه درختان زالزالک جنگل‌های شهرستان خرم‌آباد، جمع‌آوری و پس از ثبت مشخصات هر نمونه به آزمایشگاه منتقل و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نماتدها با استفاده از روش سینی استخراج شدند و در مرحله بعد تثبیت و به گلیسرین خالص انتقال یافتند و از آن‌ها اسلایدهای میکروسکوپی دائمی تهیه گردید. سپس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی نماتدها توسط میکروسکوپ نوری مجهز به دوربین Dino Capture بررسی شد. پس از انجام ریخت‌سنجی، تشخیص گونه‌ها با استفاده از منابع و کلیدهای معتبر انجام گرفت. **یافته‌ها:** پنج گونه نماتد انگل گیاهی متعلق به دو جنس در خانواده Hoplolaimidae شامل *Rotylenchus goodeyi*، *Helicotylenchus canadensis*، *Helicotylenchus digonicus*، *H. vulgaris* و *Helicotylenchus tunisiensis* در این پژوهش شناسایی گردیدند. **نتیجه‌گیری:** *R. goodeyi* برای فون نماتدهای ایران جدید است. مشخصات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی این نماتدها شرح داده شده است.

واژگان کلیدی: زالزالک، نماتد، Hoplolaimidae، *Rotylenchus*، *Helicotylenchus*

Introduction

مقدمه

جنگل‌های زاگرس دارای تنوع بالایی از گونه‌های درختی و درختچه‌ها می‌باشد. از مهمترین گونه‌های با ارزش جنگل‌های زاگرس که نقش مهمی در بهبود تنوع زیستی و ساختار جنگل‌ها ایفا می‌کنند، گونه‌های زالزالک (*Crataegus* spp.) است (Pilehvar et al. 2015). نماتدهای انگل گیاهی موجودات خاک‌زی بوده که غالباً روی ریشه به‌صورت انگل‌های داخلی، نیمه داخلی و خارجی فعال هستند و علاوه بر خسارت مستقیم، از

[✉] Bazgir.ei@lu.ac.ir

طریق تعامل با سایر بیمارگرهای گیاهی به‌طور غیر مستقیم موجب خسارت کمی و کیفی روی گیاهان می‌شوند (Nickle 1991). خانواده Hoplolaimidae Filipjev 1934 از بزرگ‌ترین و از نظر اقتصادی یکی از مهم‌ترین خانواده‌های راسته/ فوق بالاخانواده Tylenchomorpha De /Tylenchida Thorne 1949 Ley and Blaxter, 2004 محسوب می‌گردد (Siddiqi 2000, Andrassy 2007). نماتدهای ماده معمولاً کرمی‌شکل، برخی متورم تا قلوه‌ای‌شکل و نرها همگی کرمی‌شکل هستند. اعضای این خانواده در همه نقاط دنیا پراکنده بوده و در انواع اقلیم‌ها و شرایط آب و هوایی یافت می‌شوند. بعضی گونه‌های این خانواده انگل جدی گیاه بوده و با حمله به آنها باعث کاهش قابل توجه محصول در آنها می‌شوند. در ایران تا سال ۱۳۹۷، ۵۵ گونه متعلق به جنس‌های *Helicotylenchus* Steiner, 1945 و *Rotylenchus* Filipjev 1936 از نقاط مختلف جداسازی و گزارش گردید (Kashi and Karegar 2018)، پس از آن هشت گونه دیگر از این دو جنس به فون نماتدهای ایران اضافه شد (Mohammadi Rashno Bone Abbasi et al. 2018). Zameleh et al. 2018, Golhasan et al. 2016 که از این تعداد، تاکنون چهار گونه *H. H. digonicus* Perry in Perry et al. 1959, *Helicotylenchus exallus* Sher 1966 و *Rotylenchus buxophilus* و *H. vulgaris* Yuen 1964 و *tunisiensis* Siddiqi 1964a و *R. fragaricus* Maqbool and Shahina 1986 و *R. cypriensis* Antoniou 1980, Golden 1956 از استان لرستان گزارش شده‌اند (Kashi and Karegar 2018). از آنجا که تاکنون پژوهش کامل و جامعی در خصوص شناسایی نماتدهای انگل گیاهی درختان جنگلی زالزالک در شهرستان خرم‌آباد صورت نگرفته و با توجه به اهمیت و پراکنش آنها، پژوهش حاضر انجام شد.

Materials and Methods

مواد و روش‌ها

هفتاد نمونه از فراریشه سایه‌انداز درختان زالزالک حومه شهرستان خرم‌آباد در سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۸ جمع‌آوری شدند. برای این کار، ابتدا پنج سانتی‌متر از خاک سطحی را کنار زده و سپس از عمق ۵ تا ۴۰ سانتی‌متری اطراف ریشه درختان، نمونه‌های خاک برداشته شدند. نمونه‌برداری به روش تصادفی انجام گرفت. نخست شش تا هشت نمونه خاک جمع‌آوری و پس از مخلوط کردن، یک تا دو کیلوگرم از آن به‌عنوان نمونه اصلی انتخاب و پس از ثبت مشخصات به آزمایشگاه منتقل و تا زمان بررسی در یخچال و دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج نماتدها از خاک با استفاده از روش سینی (Whitehead and Heming 1965) انجام شد. نماتدهای استخراج شده با روش دگریسه (De Grisse 1969)، تثبیت و به گلسیرین منتقل گردیدند. برای تهیه اسلایدهای میکروسکوپی دائمی از روش حلقه پارافین و گلیسیرین استفاده شد. جهت عکس‌برداری و شناسایی نمونه‌ها از میکروسکوپ نوری المپیوس (Olympus) مدل CX31 مجهز به دوربین دیجیتال Dino Capture استفاده شد و مشخصات ریخت‌شناسی و ریخت‌سنجی جمعیت‌های جمع‌آوری شده مورد بررسی قرار گرفت. شناسایی گونه‌های نماتدها با مقایسه داده‌های جمع‌آوری شده با منابع و کلیدهای معتبر شناسایی نماتدهای انگل گیاهی انجام شد.

Results and Discusion

یافته‌ها و بحث

پنج گونه نماتد متعلق به دو جنس از نماتدهای انگل گیاهی متعلق به خانواده Hoplolaimidae در این پژوهش جداسازی گردیدند. این نماتدها شامل چهار گونه از جنس *Helicotylenchus* شامل

1961 Waseem *Helicotylenchus canadensis*، *H. digonicus*، *H. tunisiensis* و *H. vulgaris* و یک گونه از جنس *Rotylenchus* به نام *R. goodeyi* Loof and Oostenbrink 1958 شناسایی و مطالعه گردید که از بین آن‌ها گونه *H. canadensis* برای اولین بار از لرستان و گونه *R. goodeyi* اولین بار برای فون نماتدهای ایران معرفی می‌گردند.

1. *Rotylenchus goodeyi* Loof and Oostenbrink, 1958

ماده: بدن کرمی شکل، پس از تثبیت دارای خمیدگی به شکل C باز در سطح شکمی. کوتیکول دارای شیارهایی به عرض ۲-۱/۴ میکرومتر در وسط بدن. سطوح جانبی دارای چهار شیار طولی، حدود یک چهارم عرض بدن، شروع شیارهای طولی ۵-۸ حلقه بعد از سر و تا انتهای دم کشیده شده. ناحیه لبی نیم‌کروی، در قسمت جلویی تخت و در محل اتصال به بدن دارای کمی فروفتگی، از محل فرورفتگی تا ابتدای بدن دارای پنج حلقه با بلندی ۵/۸-۴/۵ میکرومتر و عرض قاعده ۱۱-۸ میکرومتر، دارای شبکه کوتیکولی قوی که به اندازه دو حلقه به درون بدن امتداد یافته، تعداد شیارهای طولی ناحیه لبی ۱۵-۱۴ عدد. استایلت قوی با قسمت مخروطی به اندازه تقریباً نصف طول آن ($m = 45-57\%$). گره‌های استایلت گرد، در قسمت جلویی تخت یا مقعر به عرض ۵/۶-۳/۵ میکرومتر. فاصله محل ریزش غده پشتی مری از زیر گره‌های استایلت ۸/۵-۵/۰ میکرومتر. حباب میانی مری بیضوی و رشدیافته با دریچه مشخص و به ابعاد ۱۱-۱۳×۱۸-۱۲/۵ میکرومتر. حلقه عصبی در وسط لوله ثانویه مری و بعد از حباب میانی با فاصله ۱۱۶-۸۹ میکرومتر از ابتدای بدن. همیزونید به طول یک تا دو حلقه عرضی در سطح روزنه دفعی-ترش‌چی و در فاصله ۱۳۵-۱۱۲ میکرومتر از ابتدای بدن. حباب انتهایی با همپوشانی پشتی به اندازه ۵۶-۲۳/۵ میکرومتر روی روده. دارای دو لوله تناسلی به طرفین. کیسه ذخیره اسپرم کروی تا بیضی، هم راستا با محور طولی بدن، دارای اسپرم‌های گرد. روزنه تناسلی دارای اپیپتیگمای منفرد. طول واژن ۱۵-۱۱ میکرومتر. دم کوتاه، تقریباً نیمه گرد، اندکی تحدب در سمت پشتی و شیاردار با شکل‌های متنوع، دارای ۱۰-۸ حلقه عرضی و بخش شفاف انتهایی به طول ۲/۴-۳/۱ میکرومتر. فاسمیدها دو تا سه حلقه جلوتر از روزنه دفعی.

نر: شبیه ماده‌ها ولی دارای سر گرد و گاهی تخت و استایلت کوتاه‌تر. دم کوتاه، از دید جانبی با انتهای مخروطی و کمی انحنا در سطح شکمی، اسپیکول دارای خمیدگی، بورس رشد یافته و کشیده شده تا انتهای دم (جدول ۱ و شکل‌های ۱ و ۲).

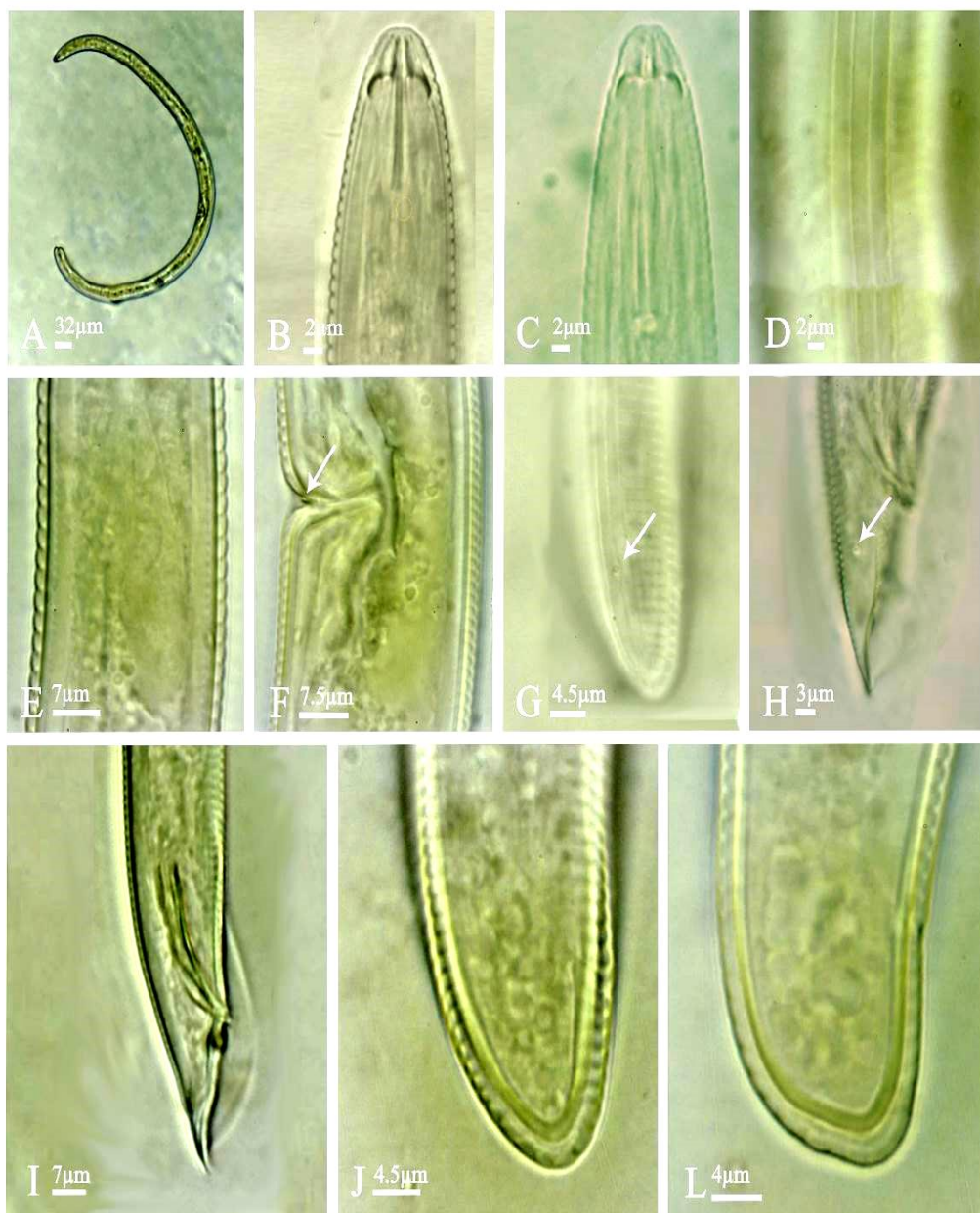
این نماتد با استفاده از منابع و کلیدهای ارائه شده توسط کومانز (Coomans 1962)، شر (Sher 1965)، کرال (Krall 1990)، گرات و باروتی (Geraert and Barooti 1996) و برزسکی (Brzeski 1998) شناسایی شد. پس از مقایسه داده‌های ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی، گونه مورد مطالعه به‌عنوان *Rotylenchus goodeyi* تشخیص داده شد. مشخصات این گونه در مقایسه با شرح توصیف شده توسط شر (Sher 1965) در تمام ویژگی‌ها به جز داشتن شاخص O بیشتر (۵/۱۵-۲۷ در مقابل ۹-۱۷) و تعداد حلقه سر بیشتر (۵ در برابر ۳-۴) مطابقت دارد. همچنین با توصیف برزسکی (Brzeski 1998) به جز در داشتن مری بلندتر (۱۷۰-۱۴۸/۰ در برابر ۸۲-۱۲۳ میکرومتر)، فاصله بیشتر محل ریزش غده پشتی مری از گره استایلت (۵/۰-۸/۵ در برابر ۶-۱ میکرومتر) و طول گوبرناکولوم کمتر (۱۰-۱۲ در برابر ۱۳-۱۵ میکرومتر) در سایر ویژگی‌ها تطابق دارد. مشخصات این نماتد در مقایسه با توصیف کومانز (۱۹۶۲) در داشتن تعداد حلقه

سر بیشتر (۵ در مقابل ۳-۴)، و مری بلندتر (۱۷۰-۱۴۸ در برابر ۹۸-۸۲) و تعداد حلقه دم (۱۰-۸ در برابر ۲۰) تفاوت دارد، ولی در سایر ویژگی‌ها مطابقت دارد.

جدول ۱. داده‌های ریخت‌سنجی *Rotylenchus goodeyi* (میکرومتر).

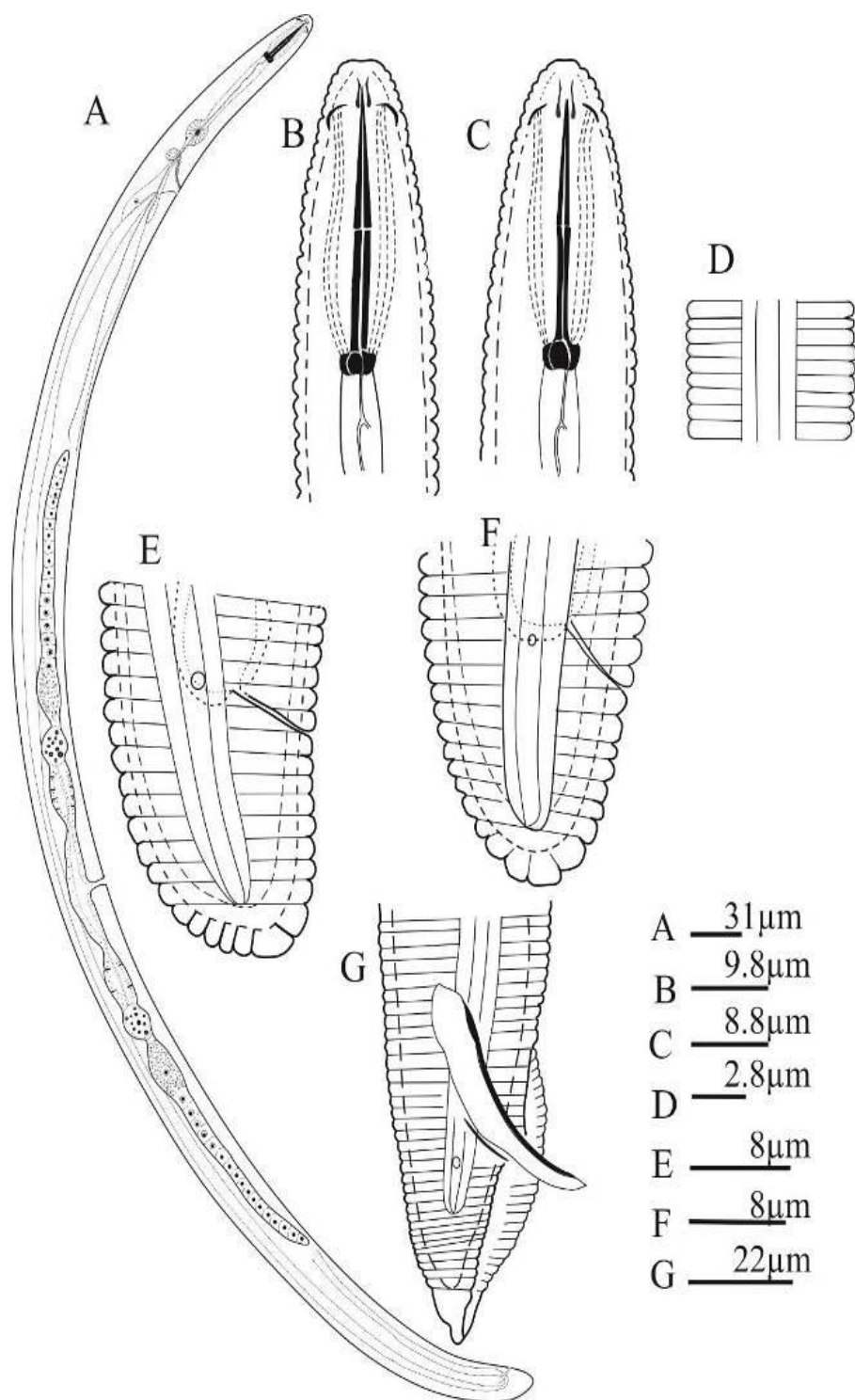
Table1. Morphometric data of *Rotylenchus goodeyi* (μm).

Characters	Present study		Sher 1965		Coomans 1962	
	Female	Male	Female	Male	Female	Male
n	10	3			50	6
L	913±46 (848-994)	836±82.9 (744-905)	760-990	680-820	690-1060	700-910
a	29.3±2.4 (24.0-32.0)	34.1±1.3 (33.0-35.5)	27-34	31-34	27-38	30-34
b	7.4±0.2 (7.1-7.7)	7.6±0.9 (6.5-8.5)	6.6-9.5	6.6-9.7	6.0-8.4	5.1-7.6
b'	5.8±0.2 (5.6-6.2)	5.4±0.3 (5.0-5.7)	6.1-7.8	5.5-6.4	-	
c	56.8±6.7 (49.0-68.0)	38.1±1.5 (37.0-40.0)	51-69	26-32	39-81.5	22-40
c'	1.0±0.1 (0.5-1.2)	1.9±0.2 (1.5-2.0)	-	-		
V	57.6±1.9 (55.5-60.5)	-	53-59	-	50-61	
Stylet	31.8±0.6 (30.0-34.0)	28.1±1.2 (27-29.0)	28-32	26-29	28-35	26-28
Oesophagus	158±7.4 (148-170)	154±7.2 (145-159)	-	-	82-98	89-101
Excretory pore	121±6.6 (113-135)	118±7.0 (113-126)	-	-		
Tail length	16.6±1.9 (13.0-18.5)	22.1±3.0 (18.5-24.5)	-	-	10.5-22	29-23
BW	31.3±2.5 (26.5-36.0)	24.5±2.1 (22.5-27.0)	-	-		
ABW	16.7±0.9 (15.0-18.۰)	11.8±0.7 (11.0-12.5)	-	-		
O	19.8±3.5 (15.5-27.0)	19.5±0.9 (18.5-20.0)	9-17	9-15		
Spicules	-	29.2±1.9 (27.0-31.0)	-	27-31		25-30.5
Gubernaculum	-	11.0±0.3 (10.0-12.0)	-	12-15		13-15



شکل ۱. *Rotylenchus goodeyi*. A: شکل کلی بدن نماتد ماده، B: شکل ابتدای بدن نماتد ماده، C: شکل ابتدای بدن نماتد نر، D: شیارهای طولی سطح جانبی، E: حباب انتهایی مری و همپوشانی آن، F: روزنه تناسلی و اپیپتیگما، G: محل قرار گرفتن فاسمید در ماده، H: محل فاسمید در نر، I: دم در نماتد نر، J-L: دم در نماتد ماده.

Figure 1. *Rotylenchus goodeyi*. A: Entire female body, B: Female anterior end, C: Male anterior end, D: Lateral field, E: Pharyngeal basal bulb and it's overlap, F: Vulva region and Epitigma, G: Phasmid in female, H: Phasmid in male, I: Male tail, spicules and bursa, J-L: Female -posterior end.



شکل ۲. *Rotylenchus goodeyi*. A: شکل کلی بدن نماتد ماده، B: شکل ابتدای بدن نماتد ماده، C: شکل ابتدای بدن نماتد نر، D: شیارهای طولی سطح جانبی، E و F: دم در نماتد ماده و محل فاسمید، G: دم و محل فاسمید در نر.

Figure 2. *Rotylenchus goodeyi*. A: Entire female body, B: Female anterior end, C: Male anterior end, D: Lateral field, E and F: Female -posterior end and Phasmid in female, H: Phasmid in male, G: Male tail, spicules, bursa and Phasmid in male.

این گونه با گونه‌های *R. capensis* Van *R. agnetis* Szczygiel 1968، *R. eximius* Siddiqi 1964b، *R. pumilus* Perry 1959، den Berg and Heyns 1974 قابل مقایسه است. از گونه *R. eximius* در داشتن بدن کوتاه‌تر (۸۴۸-۹۹۴) در برابر (۱۴۰۰-۱۲۰۰ میکرومتر)، شاخص a کمتر (۳۲-۲۴) در برابر (۳۷-۳۲)، استایلیت کوتاه‌تر (۳۰-۳۴) در برابر (۳۸-۴۱ میکرومتر)، کمتر بودن فاصله محل ریزش غده پشتی مری از گره استایلیت (۵/۰-۸/۵) در برابر (۱۱-۱۳) و بیشتر بودن تعداد حلقه دم (۸-۱۰) در برابر (۱۱-۱۲) متمایز می‌شود. نسبت به گونه *R. agnetis* در داشتن شاخص b بیشتر (۷/۱-۷/۷) در برابر (۵/۱-۶/۸)، وجود حلقه‌های عرضی در کوتیکول دم در مقابل عدم وجود آنها و وجود نمادهای نر در برابر فقدان آن از *R. agnetis* متمایز است. همچنین در مقایسه با گونه *R. capensis* به دلیل داشتن شاخص c کمتر (۴۹-۶۸) در برابر (۵۰/۵-۸۰)، شاخص c' بیشتر (۰/۵-۱/۲) در برابر (۰/۵-۰/۹)، گوبرناکولوم کوتاه‌تر (۱۰-۱۲) در برابر (۱۴/۵-۱۳/۰ میکرومتر) متمایز است. تفاوت آن با گونه *R. pumilus* نیز به علت داشتن استایلیت بلندتر (۳۰-۳۴) در برابر (۲۳-۲۶ میکرومتر) است.

این گونه اولین بار توسط لوف و اوستنبرینک (Loof and Oostnbrink 1958) از سیدنهام انگلستان گزارش شده است. بر اساس منابع موجود تاکنون گزارشی از این گونه در ایران وجود ندارد و در این پژوهش برای اولین بار از خاک فراریشه درختان زالزالک روستای ورنمد حومه شهرستان خرم‌آباد جمع‌آوری و گزارش می‌گردد.

2. *Helicotylenchus canadensis* Waseem, 1961

ماده: پس از تثبیت به صورت خمیده یا شکل C باز. سطوح جانبی دارای چهار شیار طولی و حدود یک چهارم عرض بدن. ناحیه لبی مخروط ناقص، در امتداد بدن و دارای چهار یا پنج حلقه، بلندی سر ۳/۵-۵ میکرومتر و عرض آن در پایه ۶/۹-۹/۲ میکرومتر. شبکه کوتیکولی سر قوی و به اندازه سه حلقه به درون بدن امتداد دارد. استایلیت رشد یافته، با گره‌های مشخص با سطح جلویی تخت یا کمی متمایل به جلو. فاصله محل ریزش غده پشتی مری از گره‌های استایلیت ۹/۰-۱۱ میکرومتر. همپوشانی حباب انتهایی با روده از نوع جانبی-شکمی و به طول ۲۴-۴۳ میکرومتر. دارای دو لوله تناسلی، کیسه ذخیره اسپرم خالی و در امتداد محور تخمدان. دم کوتاه و از سمت پشتی محدب، دارای ۸-۱۲ حلقه، دم نیم‌کروی بدون زائده انتهایی، فاسمیدها ۷-۱۲ شیار عرضی جلوتر از مخرج (جدول ۲ و شکل ۳). نر: یافت نشد.

مشخصات این نماد در مقایسه با توصیف وسیم (Waseem 1961)، به جز در داشتن شاخص v کمتر (۶۰/۵-۵۵/۵-در برابر ۶۱-۶۶)، استایلیت بلندتر (۳۲/۵-۳۴) در برابر (۲۸-۳۰ میکرومتر) و دم بلندتر (۱۷/۵-۲۰/۵) در برابر (۱۲-۱۶ میکرومتر) در سایر ویژگی‌های اصلی مشابهت دارند. همچنین با توجه به مشخصات ارائه شده توسط باعدل‌چری و همکاران (BaadlCheri et al. 2011)، این جمعیت فقط در داشتن استایلیت بلندتر (۳۲/۵-۳۴) در برابر (۲۹-۳۱ میکرومتر) تفاوت دارد. این گونه اولین بار توسط وسیم (Waseem 1961) از خاک اطراف ریشه‌های شبدر قرمز (*Trifolium pretense* L.) در کانادا جداسازی و مورد شناسایی قرار گرفت. در ایران نیز اولین بار توسط باعدل‌چری و همکاران (BaadlCheri et al. 2011)، از ریشه کلزا در استان خراسان شمالی و هم‌زمان توسط هراتی و همکاران (Harati et al. 2010) در استان سمنان جمع‌آوری و گزارش شد. این گونه از فراریشه درختان زالزالک در روستای هزارمنی حومه شهرستان خرم‌آباد در این پژوهش جداسازی گردید.

3. *Helicotylenchus digonicus* Perry, 1959

ماده: پس از تثبیت خمیده یا دارای شکل C باز. کوتیکول با شیارهای عرضی نسبتاً عمیق و مشخص به عرض ۱/۱-۱/۳ میکرومتر، سطوح جانبی دارای چهار شیار طولی، شیار داخلی سطوح جانبی به هم نچسبیده و در انتها U شکل دیده می‌شوند. سر در امتداد بدن با بلندی ۳/۴-۳/۸ و عرض ۶/۹-۹/۲ میکرومتر، به شکل مخروط ناقص و دارای ۴ تا ۵ حلقه ظریف، دارای شبکه کوتیکولی قوی و به اندازه سه حلقه به درون بدن امتداد دارد. استایلیت قوی. سطح جلویی گره‌ها تخت و یا متمایل به سمت جلوی بدن، فاصله محل ریزش غده پشتی مری از گره‌های استایلیت ۸-۱۱ میکرومتر. دارای دو لوله تناسلی، کیسه ذخیره اسپرم خارج از محور تناسلی و فاقد اسپرم. دم کوتاه، نیمه استوانه‌ای تا مخروطی، از طرف پشتی محدب با ۱۳ حلقه در سطح شکمی. فاسمیدها ۴ تا ۹ حلقه جلوتر از روزنه دفعی (جدول ۲ و شکل ۳). نو: یافت نشد.

مشخصات اصلی ریخت‌شناختی این گونه با توصیف H. digonicus Perry, in Perry et al. 1959 مطابقت دارد، ولی در محل قرار گرفتن فاسمید (۴-۹ حلقه قبل از روزنه دفعی در مقابل ۵-۳ حلقه)، بیشتر بودن تعداد حلقه‌های دم (۱۳ در برابر ۱۰-۴)، بدن بلندتر (۷۱۶-۸۱۸ در مقابل ۶۲۰-۷۱۰ میکرومتر)، شاخص C کمتر (۳۸-۴۹ در مقابل ۵۳-۷۰) تفاوت دارد. همچنین این گونه با ویژگی‌های جمعیت گزارش شده توسط سعیدی‌زاده (Saeedizadeh 2017)، کاملاً مطابقت داشته در حالی که در مقایسه با جمعیت باعدل‌چری و همکاران (BaadlCheri et al. 2011)، در ضمن تطابق کامل ویژگی‌های اصلی با داشتن شاخص C کمتر (۳۸-۴۹ در برابر ۴۲-۵۵) و شاخص C' بیشتر (۰/۷-۱/۰ در مقابل ۱/۰-۱/۳) متمایز می‌گردد. این گونه اولین بار توسط پری و همکاران (۱۹۵۹) در آمریکا از اطراف ریشه *Poa pratensis* L. جداسازی و شناسایی شد. این گونه برای اولین بار در ایران نیز توسط خیری (۱۹۷۲)، از مزارع بادام‌زمینی، چغندرقد، سیب‌زمینی و گندم از کرج گزارش شده است. گونه مذکور در این مطالعه از خاک فراریشه درختان زالزالک در منطقه مله کبوده حومه شهرستان خرم‌آباد جمع‌آوری و شناسایی گردید.

4. *Helicotylenchus tunisiensis* Siddiqi, 1964

ماده: پس از تثبیت به شکل پیچ‌خورده تا حلقوی باز. سطوح جانبی دارای چهار شیار طولی ظریف به عرض ۵/۸-۷/۹ میکرومتر و ۱۳-۲۱ درصد عرض بدن. سر دوزنقه‌ای شکل و در قسمت جلویی تخت، در امتداد بدن، دارای پنج تا شش حلقه، با بلندی ۴/۵-۵ میکرومتر و عرض آن در پایه ۸/۶-۹/۶ میکرومتر، دارای شبکه کوتیکولی قوی و به اندازه تقریباً سه حلقه به درون بدن امتداد یافته، استایلیت رشد یافته، گره‌های استایلیت قوی، متمایل به سمت جلوی بدن و قسمت جلویی گره‌ها تا حدودی مقعر. محل ریزش غده پشتی مری ۹/۳-۱۲/۰ میکرومتر بعد از گره استایلیت. دارای دو لوله تناسلی، کیسه ذخیره اسپرم گرد و فاقد اسپرم، متصل به محور تخمدان. دم دارای خمیدگی بیشتری از سمت پشتی نسبت به شکمی. انتهای دم گرد و صاف، از سطح شکمی دارای ۹-۱۲ حلقه. طول دم برابر با عرض بدن در ناحیه مخرج، فاسمید به اندازه ۵-۱۲ حلقه قبل از منفذ دفعی (جدول ۲ و شکل ۳). نو: یافت نشد.

مشخصات اصلی ریخت‌شناختی این گونه در مقایسه با توصیف ارائه شده توسط صدیقی (Siddiqi 1964a) کاملاً مطابقت دارد و تنها در بیشتر بودن تعداد شیارهای عرضی سر (۴-۵ حلقه در برابر ۴ حلقه) متفاوت است. همچنین با گونه گزارش شده توسط ناصری و همکاران (Naseri et al. 2008)، تنها در شاخص O بیشتر (۳۲/۵-۲۷/۵ در برابر ۱۹/۵-۲۳/۵) و استایلیت کوتاه‌تر (۳۴/۰-۳۷/۰ در مقابل ۳۶/۰-۳۹/۰ میکرومتر)

اختلاف دارد. این گونه اولین بار توسط صدیقی (۱۹۶۳) از خاک اطراف ریشه سیب‌زمینی از کشور تونس جمع‌آوری و گزارش شد. این نماتد در ایران نیز از مزارع کلزا استان مازندران توسط ناصری و همکاران (۱۳۸۷) (ب) گزارش شده است. این گونه در این پژوهش از فراریشه درختان زالزالک روستای دره جنگی حومه شهرستان خرم‌آباد جمع‌آوری و شناسایی گردید.

5. *Helicotylenchus vulgaris* Yuen, 1964

ماده: بدن کرمی‌شکل و پس از تثبیت شدن دارای حالت مارپیچی باز تا C شکل. دارای چهار شیار طولی به عرض ۶/۱-۷/۰ میکرومتر و حدود یک چهارم عرض بدن در ناحیه تناسلی، دو شیار داخلی سطوح جانبی به هم نچسبیده و در انتها U شکل دیده می‌شوند. سر در امتداد بدن و دارای ۴-۵ حلقه، با بلندی ۴/۱-۴/۸ و عرض در قاعده ۷/۶-۸/۵ میکرومتر، دارای شبکه کوتیکولی متوسط تا قوی که به اندازه دو تا سه حلقه به درون بدن امتداد یافته، استایلت قوی، گره‌های استایلت بزرگ، گرد و در قسمت جلویی مقعر. فاصله محل ریزش غده‌های پشتی مری از گره‌های استایلت ۶/۵-۹/۵ میکرومتر. دارای دو لوله تناسلی، کیسه ذخیره اسپرم کروی شکل و متصل به محور لوله تولیدمثلی، فاقد اسپرم. دم کوتاه، نیمه استوانه‌ای تا مخروطی، از طرف پشتی خمیده‌تر در مقایسه با طرف شکمی. دارای ۶-۱۰ حلقه در سطح شکمی. فاسمید به فاصله ۱۶-۱۰ حلقه قبل از روزنه دفعی (جدول ۲ و شکل ۳). نو: یافت نشد.

مشخصات ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی جمعیت مورد مطالعه مشابه شرح اصلی یوئن (Yuen 1964) است ولی در کمتر بودن شاخص C (۴۹-۸۶ در برابر ۶۳-۱۱۶ میکرومتر) و کمتر بودن فاصله محل ریزش غده پشتی مری از گره‌های استایلت (۶/۵-۹/۵ در مقابل ۹-۱۲ میکرومتر) تفاوت دارند. همچنین در مقایسه با جمعیت گزارش شده توسط حسن‌زاده خلیفه‌کندی و همکاران (Hassanzadeh et al. 2005) از ایران، در تمام ویژگی‌ها کاملاً تطابق دارد. این گونه برای اولین بار از انگلستان توسط یوئن (۱۹۶۴) و از خاک اطراف ریشه نوعی گراس جمع‌آوری و شناسایی شد. همچنین این گونه در ایران اولین بار توسط خیری (Kheiri 1972) از سیب، گندم، چغندر، بادام زمینی در استان البرز گزارش شده است. در این مطالعه گونه مذکور از خاک فراریشه درختان زالزالک روستای پری مرده شهرستان خرم‌آباد جمع‌آوری و شناسایی گردید.

Conclusion

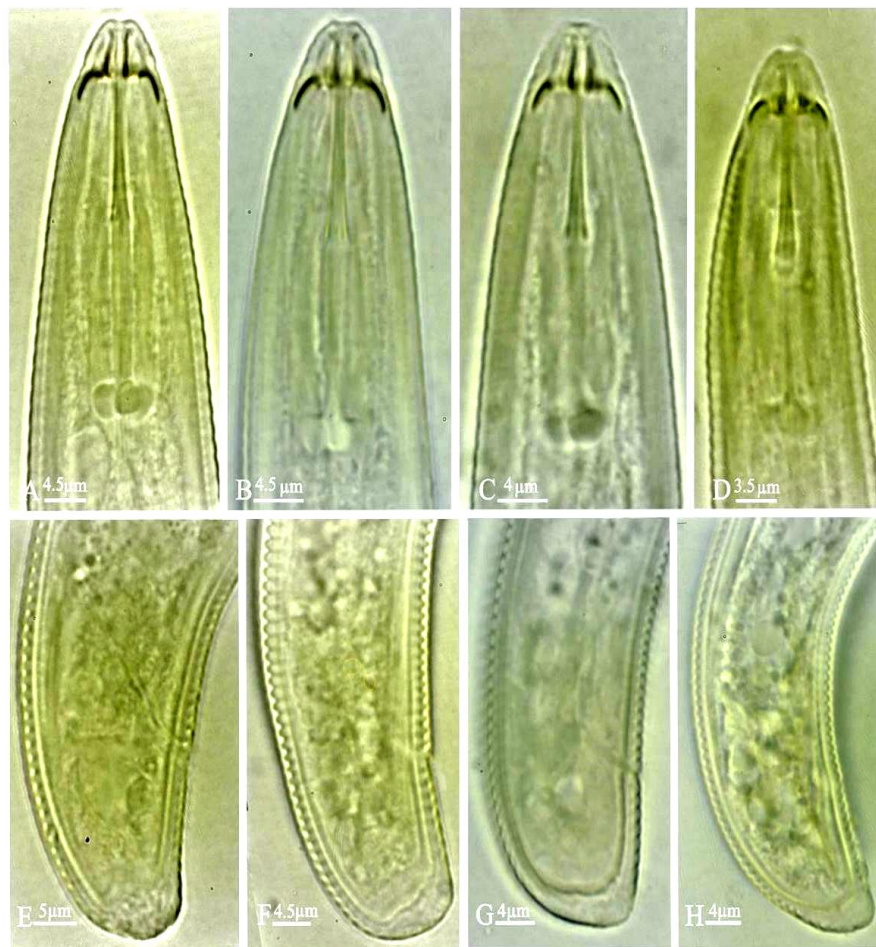
نتیجه‌گیری

پنج گونه نماتد متعلق به دو جنس از نماتدهای انگل گیاهی خانواده Hoplolaimidae در فراریشه درختان زالزالک استان لرستان در این پژوهش شناسایی شدند. از بین آن‌ها گونه *H. canadensis* برای اولین بار از استان لرستان و گونه *R. goodeyi* برای نخستین بار برای فون نماتدهای ایران معرفی می‌گردند.

جدول ۲. داده‌های ریخت‌سنجی گونه‌های *H. tunisiensis*, *H. digonichus*, *H. canadensis* و *H. vulgaris* (میکرومتر)

Table 2. Morphometric characteristics of *H. canadensis*, *H. digonichus*, *H. tunisiensis*, and *H. vulgaris* (μm).

Characters	<i>H. canadensis</i>	<i>H. digonichus</i>	<i>H. tunisiensis</i>	<i>H. vulgaris</i>
Place	Hezar mani	Mele kabudeh	Dare jangi	Pari mordeh
N	5	5	5	5
L	891.8 $\pm$ 50.0 (826-955)	776.2 $\pm$ 44.3 (716-818)	1054.1 $\pm$ 69.4 (947-1128)	872.4 $\pm$ 33.7 (833-921)
a	25.3 $\pm$ 2.0 (23.9-28.8)	30.7 $\pm$ 0.8 (29.8-31.4)	24.2 $\pm$ 3.4 (20.4-29.0)	25.3 $\pm$ 2.0 (23.8-28.6)
b	6.5 $\pm$ 0.4 (6.1-7.1)	6.1 $\pm$ 0.5 (5.5-6.7)	7.5 $\pm$ 0.4 (6.9-7.8)	7.8 $\pm$ 0.3 (7.3-8.2)
b'	5.2 $\pm$ 0.3 (4.9-5.6)	4.9 $\pm$ 0.3 (4.5-5.2)	5.6 $\pm$ 0.2 (5.3-5.9)	5.8 $\pm$ 0.2 (5.6-6.1)
c	47.7 $\pm$ 4.7 (40.7-52.4)	44.4 $\pm$ 4.1 (38.0-49.0)	55.4 $\pm$ 3.8 (50.4-59.7)	59.8 $\pm$ 15.5 (49.0-86.4)
c'	1.1 $\pm$ 0.0 (1.0-1.1)	1.1 $\pm$ 0.1 (1.0-1.3)	0.9 $\pm$ 0.1 (0.8-1.0)	1.0 $\pm$ 0.2 (0.6-1.2)
V	57.7 $\pm$ 2.0 (55.5-60.5)	60.2 $\pm$ 3.5 (56.4-64.4)	58.6 $\pm$ 1.2 (57.1-59.7)	60.7 $\pm$ 0.5 (59.9-61.2)
Stylet	33.4 $\pm$ 0.5 (32.5-34.0)	27.4 $\pm$ 1.2 (25.6-28.6)	35.7 $\pm$ 1.2 (33.8-37.0)	30.5 $\pm$ 1.4 (29.0-32.7)
O.g.e	172.5 $\pm$ 2.4 (169.3-175.2)	156.9 $\pm$ 4.5 (150.8-163.0)	187.0 $\pm$ 7.5 (177.6-197.4)	149.2 $\pm$ 5.0 (141.1-153.8)
MB	68.3 $\pm$ 5.5 (59.0-73.5)	67.5 $\pm$ 2.0 (64.1-69.4)	70.7 $\pm$ 1.2 (68.7-71.9)	73.5 $\pm$ 2.8 (69.6-77.4)
Ex.p	134.6 $\pm$ 6.8 (122.8-139.9)	122.2 $\pm$ 3.5 (119.9-128.3)	145.7 $\pm$ 8.5 (135.9-158.2)	115.7 $\pm$ 3.9 (111.6-120.0)
Tail length	18.8 $\pm$ 1.0 (17.7-20.3)	17.6 $\pm$ 1.4 (16.4-19.7)	19.1 $\pm$ 2.3 (15.9-21.8)	15.2 $\pm$ 3.0 (10.2-17.8)
BW	35.4 $\pm$ 3.5 (30.2-39.6)	25.3 $\pm$ 1.4 (23.8-27.3)	44.0 $\pm$ 4.4 (36.7-48.0)	34.7 $\pm$ 3.2 (29.2-37.1)
ABW	17.2 $\pm$ 0.7 (16.6-17.9)	15.6 $\pm$ 0.6 (15.0-16.3)	20.3 $\pm$ 0.9 (19.1-21.6)	16.0 $\pm$ 1.7 (13.2-17.6)
O	29.4 $\pm$ 2.3 (27.3-32.7)	34.1 $\pm$ 5.0 (28.3-39.7)	28.9 $\pm$ 2.1 (27.5-32.4)	25.0 $\pm$ 4.0 (21.1-30.6)



شکل ۳. مقایسه شکل سر و دم در گونه‌هایی از جنس *Helicotylenchus*: A و E: *H. tunisiensis* و B و

F: *H. canadensis*; C و G: *H. vulgaris*; D و H: *H. digonicus*.

Figure 3. Comparison of head and tail shape in some species of *Helicotylenchus* species: A and E: *H. tunisiensis*; B and F: *H. Canadensis*; C and G: *H. vulgaris*; D and H: *H. digonicus*.

References

منابع

1. Andrassy I (2007) Free-Living Nematodes of Hungary (Nematoda errantia) II. Hungarian Natural History Museum, 496 p.
2. Antoniou M (1980) *Rotylenchus cypriensis* sp. N. (Nematoda: Hoplolaimidae) from Cyprus. *Nematologica Mediterranea* 8:137-140.
3. BaadlCheri S, MahdikhaniMoghaddam E, Rouhani H (2011) Introduction of *Helicotylenchus Steiner*, 1945 species in rapeseed fields of North Khorasan Province. *Journal of Plant Protection* 25:8-20 (In Persian).
4. Brzeski MW (1998) Nematodes of Tylenchina in Poland and Temperate Europe. *Muzeum i Instytut Zoologii Polska Akademia Nauk*. 397p.
5. Coomans A (1962) Morphological observations on *Rotylenchus goodeyi* Loof and Oostenbrink, 1958. *Nematologica* 7:203-215.

6. De Grisse AT (1969) Redescription ou modification de quelques techniques utilisees dans l'etude des nematodes phytoparasitaires. Mededelingen Rijksfaculteit der Landbouwetenschappen Gent 34:351–369.
7. De Ley P, Blaxter, ML (2004) A new system for Nematoda: combining morphological characters with molecular trees, and translating clades into ranks and taxa. Pp.633-653. In: R Cook, DJ Hunt (eds.) Proceedings of the Fourth International Congress of Nematology, 8-13 June 2002, Tenerife, Spain. Nematology Monographs and Perspectives 2. Brill, Leiden, the Netherlands.
8. Filipjev IN (1934) The classification of the free-living nematodes and their relation to the parasitic nematodes. Smithsonian Miscellaneous Collections 89:1-63.
9. Filipjev IN (1936) O svobodnozhivushchikh rodakh i parazitakh rastenii iz zpodsemeistva Tylenchinae (Free-living genera and plant parasites from subfamily Tylenchinae). Yr. Zool. In-ta AN SSSR 3:537-550.
10. Geraert E, Barooti S (1996) Four *Rotylenchus* from Iran, with a key to the species. Nematologica 42:503-520.
11. Golden AM (1956) Taxonomy of the spiral nematodes (*Rotylenchus* and *Helicotylenchus*), and the developmental stages and host-parasite relationships of *R. buxophilus* n. sp., attacking boxwood. Bulletin of the Maryland Agricultural Experiment Station A-85. 28p.
12. Golhasan B, Heydari R, Álvarez-Ortega S, Meckes O, Pedram M, Atighi MR (2016) *Rotylenchus sardashtensis* n. sp., a monosexual species from Iran, with molecular identification and detailed morphological observations on an Iranian population of *Rotylenchus cypriensis* Antoniou, 1980 (Nematoda: Rhabditida: Hoplolaimidae). Systematic Parasitology 93:395-411.
13. Harati S, Eskandari A, Tanha Maafi Z, Barooti SH (2010) Identification of eleven plant parasitic nematodes belonging to the family Hoplolaimidae from vegetation of Shahrood and suburbs. Proceeding of 19st Iranian Plant Protection Congress, Volume II Plant Diseases, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran, p.615. (In Persian).
14. Hassanzadeh Khalifehkandi Z, Karegar A, Kheiri A (2005) Some species of order Tylenchida collected from alfalfa fields in Hamadan Province. Iranian Journal of Plant Pathology 41:663-686. (In Persian).
15. Kashi L and Karegar A (2018) Hoplolaimidae Family. Pp.295-358. In: R, Ghaderi L, Khashi, A Karegar (eds.). Plant-parasitic nematodes in Iran. Marjae-e-Elm and Iranian Society of Nematology Publication, 754p. (In Persian).
16. Krall EL (1990) Root Parasitic Nematodes (Family: Hoplolaimidae). Paules Press, New Delhi India, 580p.
17. Loof PA, Oostenbrink M (1958) Die Identitat von *Tylenchus robustus* de Man. Nematologica 3:34-43.
18. Maqbool MA, Shahina F (1986) Four new species of the family Hoplolaimidae: (Nematoda) with notes on *Rotylenchus cypriensis*. Antoniou from Pakistan. Nematologia Mediterranea 14:117-128.

19. Mohammadi Zameleh F, Karegar A, Ghaderi R (2018) Plant-parasitic and mycetophagus nematodes and their distribution in legume fields of Kermanshah province, Iran. Proceedings of the 23rd Iranian Plant Protection Congress, 27-30 August, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. p.735.
20. Naseri B, Pourjam A, Tanha maafi Z (2008) Some plant parasitic nematodes from canola growing regions of Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 44:289-318. (In Persian).
21. Nickle WR (1991). Manual of Agricultural Nematology. Marcel Dekker, Inc., New York, 1035p.
22. Perry VG (1959) A note on digonic hermaphroditism in spiral nematodes (*Helicotylenchus* spp.). Nematologica 4:87-88.
23. Perry VG, Darling M, Thorne G (1959) Anatomy, taxonomy, and control of certain spiral nematodes attacking blue grass in Wisconsin. Bulletin of University of Wisconsin Research 207:1-24.
24. Pilehvar B, Mirazadi Z, Alijani V, Jafari Sarabi H (2015) Investigation of hawthorn and maple's stands structures of zagros forest using nearest neighbors indices. Journal of Zagros Forests Researches 1:1-14. (In Persian).
25. Rashno Bone Abasi Z, Mahdikhani Moghadam E, Baghaee Ravi S (2018) Identification of *Helicotylenchus* species from citrus orchards in the north of Khuzestan Province. Proceedings of the 23rd Iranian Plant Protection Congress, 27-30 August, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. p.863.
26. Saeedizadeh A (2017) Identification and distribution of plant-parasitic nematodes in landscape of Tehran City, Iran. Iranian Journal of Plant Protection Science 47:43-49. (In Persian).
27. Sher SA (1965) Revision of the Hoplolaiminae (Nematoda) V. *Rotylenchus* Filipjev, 19361. Nematologica 11:173-198.
28. Sher SA (1966) Revision of the Hoplolaiminae (Nematoda) VI. *Helicotylenchus* Steiner, 1945. Nematologica 12:1-56.
29. Siddiqi MR (1964a) New records of plant and soil nematodes in India, Labdev. Journal of Science and Technology 2:73-74.
30. Siddiqi MR (1964b) *Rotylenchus eximius* n. sp. (Nematoda: Hoplolaiminae) found around almond roots in Tunisia. Nematologica 10:101-104.
31. Siddiqi MR (2000) Tylenchida: parasites of plants and insects. CABI Publishing, Wallingford, UK, 833p.
32. Steiner G (1945) *Helichotylenchus*, a new genus of plant-parasitic nematodes and its relationship to *Rotylenchus* Filipjev. Proceedings of the Helminthological Society of Washington 12:34-38.
33. Szczygiel A (1968) *Rotylenchus agnetis* sp. n. (Nematoda, Hoplolaiminae) from Poland. Bulletin of the Poland. Academy of Sciences Biology 16:573-575.

34. Thorne G (1949) On the classification of the Tylenchida, new order (Nematoda : Phasmidia). Proceedings of the Helminthological Society of Washington 16:37-73.
35. Van den Berg E, Heyns J (1974) South African Hoplolaiminae.3. The genus *Rotylenchus* Filipjev, 1936. Phytophylactica 6:165-184.
36. Waseem M (1961) Two new species of the genus *Helichotylenchus* Steiner, 1945 (Nematoda: Hoplolaiminae). Canadian Journal of Zoology 39:505-509.
37. Whitehead AG and Heming JR (1965) A comparison of some quantitative methods of extracting small vermiform nematodes from soil. Annales of Applied Biology 55: 25- 38.
38. Yuen PH (1964) Four new species of *Helieorylenchus* Steiner (Hoplolaiminae: Tylenchida) and a redescription of *H. canadensis* Waseem, 1961. Nematologica 10:373-387.

Research Article

Effect of eight essential oils on bacterial canker disease in citrus

RASOOL REZAEI✉

Department of Plant Protection, Yasouj University, Yasouj, Iran

Received: 04.02.2020

Accepted: 09.03.2020

Rezaei R (2020) Effect of eight essential oils on bacterial canker disease in citrus. Plant Pathology Science 9(1):30-39. DOI: 10.2982/PPS.9.1.30.

Abstract

Introduction: Citrus bacterial canker caused by *Xanthomonas citri* subsp. *citri* is an economically important disease in many tropical and subtropical countries. Several pathotypes of this pathogen have been described which, in addition to certain genotypic features, are distinguished above all by their geographical origin and their host range. Citrus bacterial canker disease is wide spread in Iran and a major threat to the production of Mexican lime (*Citrus aurantifolia*). Therefore, management of citrus canker is inevitable in citrus growing areas where citrus canker has been established. Application of copper-based bactericides is a standard control measure for management of citrus canker worldwide. Therefore, their long-term use leads to the development of resistant isolates. Plant extracts and essential oils with an antimicrobial effect have become particularly important as an environmentally friendly method for the treatment of plant diseases. Many researchers have recently focused on studying plant extracts and essential oils that contain antimicrobial compounds. **Material and Methods:** The present study was carried out on the antibacterial effect of Common yarrow (*Achillea millefolium*), Ginger (*Zingiber officinale*), Golden marguerite (*Anthemis tinctoria*), Fennel (*Foeniculum vulgare*), Common sage (*Salvia officinalis*), Gum tragacanth (*Astragalus gossypinus*), Summer savory (*Satureja hortensis*) and True cardamom (*Elettaria cardamomum*) against two pathotype of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* under laboratory and greenhouse conditions. **Results:** All essential oils have an inhibitory effect on multiplication of *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. The antibacterial test results showed that the essential oils of Ginger and True cardamom strongly inhibited the growth of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* pathotype, especially the pathotype A*, whereas other essential oils showed moderate to weak activities. **Conclusion:** The essential oils of these eight plants, especially ginger and cardamom, have good potential for the management of citrus bacterial canker.

Key words: Canker, Citrus, *Xanthomonas*, Ginger

✉ rrezaei@yu.ac.ir

مقاله پژوهشی

اثر هشت اسانس گیاهی بر بیماری شانکر باکتریایی مرکبات

رسول رضائی✉

گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه یاسوج

پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۱۹

دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۱۵

رضائی ر (۱۳۹۸) اثر هشت اسانس گیاهی بر بیماری شانکر باکتریایی مرکبات. دانش بیماری‌شناسی گیاهی

DOI: 10.2982/PPS.9.1.30. ۳۰-۳۹: (۱)۹

چکیده

مقدمه: شانکر باکتریایی مرکبات، ناشی از باکتری *Xanthomonas citri* subsp. *citri* یک بیماری مهم اقتصادی در بسیاری از کشورهای نواحی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری به شمار می‌آید. چندین پاتوتیپ از بیمارگر توصیف شده است که بر اساس منشاء جغرفیایی، دامنه میزبانی و همچنین برخی ویژگی‌های ژنوتیپی متمایز شده‌اند. این بیماری در ایران بسیار شایع است و تهدید جدی برای درختان لیموترش (*Citrus aurantifolia*) به شمار می‌آید، بنابراین مدیریت بیماری در مناطق کشت مرکبات، که بیماری مستقر شده، ضروری است. یکی از اقدام‌های مدیریتی بیماری استفاده از سم‌های مسی است، ولی استفاده طولانی مدت از این سمها منجر به ظهور سویه‌های مقاوم می‌گردد. امروزه استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی با فعالیت ضد میکروبی به عنوان یک روش سازگار با محیط‌زیست برای مدیریت بیماری‌های گیاهی اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است. اخیراً پژوهشهای بسیاری در زمینه اسانس‌های گیاهی حاوی ترکیبات ضد میکروبی متمرکز شده است. **مواد و روش‌ها:** در این پژوهش اثر ضدباکتریایی اسانس‌های گیاهان بومادران (*Achillea millefolium*)، زنجبیل (*Zingiber officinale*)، بابونه (*Anthemis tinctoria*)، رازیانه (*Foeniculum vulgare*)، مریم‌گلی (*Salvia officinalis*)، گون (*Astaraglus gossypinus*)، مرزه (*Satureja hortensis*) و هل (*Elettaria cardamomum*) علیه دو پاتوتیپ باکتری عامل بیماری در شرایط آزمایشگاه و گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفت. **یافته‌ها:** همه اسانس‌های مورد استفاده تأثیر ممانعت‌کنندگی از رشد باکتری را داشتند. همچنین اسانس گیاهان زنجبیل و هل به خوبی از رشد دو پاتوتیپ باکتری به ویژه پاتوتیپ A* جلوگیری کردند و سایر اسانس‌ها تأثیر متوسط تا ضعیف داشتند. **نتیجه‌گیری:** اسانس‌های این هشت گیاه، مخصوصاً زنجبیل و هل، پتانسیل خوبی برای مدیریت بیماری شانکر باکتریایی مرکبات دارا می‌باشند.

واژگان کلیدی: شانکر، مرکبات، *Xanthomonas*، زنجبیل

Introduction

مقدمه

مرکبات از محصولات مهم باغی بوده و از نظر اقتصادی و مبادلات تجاری در دنیا و ایران دارای اهمیت زیادی می‌باشند. با توجه به اهمیت اقتصادی و تنوع اقلیمی مناطق گوناگون کشت مرکبات در ایران، توجه به مسائل و مشکلات مربوط به بیماری‌ها و آفات این محصول متناسب با اقلیم هر استان، در کیفیت مدیریت منابع و

✉ rrezaei@yu.ac.ir

میزان تولید تأثیرگذار خواهد بود. مرکبات نیز مانند بسیاری از محصولات دیگر دارای چندین بیماری مخرب مانند شانکر باکتریایی می‌باشند که شناسایی سریع و دقیق نشانه این بیماری‌ها در کنترل و مدیریت آنها بسیار حائز اهمیت است (Graham et al. 2004). بیماری شانکر باکتریایی مرکبات که توسط باکتری *Xanthomonas citri* subsp. *citri* Hasse 1915 ایجاد می‌شود، از مهم‌ترین بیماری‌های درختان مرکبات، خصوصاً لیموترش در مناطق جنوبی کشور می‌باشد (Khodakaramian et al. 2000). باکتری عامل بیماری تمام اندام‌های جوان اعم از برگ، شاخه‌های نرم و میوه‌ها را مورد حمله قرار می‌دهد و لکه‌های زخم مانند برجسته‌ای روی آن به وجود می‌آورد. نشانه‌های ابتدائی به صورت زخم‌های برجسته و جوش مانند در سطح بافت ظاهر می‌شوند و به تدریج بزرگ شده و با گذشت زمان چوب‌پنبه‌ای می‌شوند. چنانچه شرایط محیط از نظر دما و رطوبت برای رشد عامل بیماری مناسب باشد، برگ‌ها و میوه‌های آلوده ریزش کرده و سرشاخه‌ها خشک می‌شوند. آلودگی شدید به این بیماری سبب برگ‌ریزی درخت، کاهش کمیت و کیفیت محصول، ریزش زودهنگام میوه، خشک شدن ناگهانی درخت و کاهش بازارپسندی محصول می‌شود (Deng et al. 2010). استفاده شدید و بی‌رویه از سم‌ها شیمیایی در کشاورزی موجب بروز مشکلات زیادی مانند آلودگی آب، خاک، حیوانات، مواد غذایی، مسمهات کشاورزان، حذف ارگانیسم‌های غیر هدف و انتخاب بیمارگر گیاهی، آفات و علف‌های هرز شده است. علاوه بر این در پاره‌ای از موارد بروز مقاومت در برابر این ترکیبات، سبب می‌شود که اساساً کارایی خود را از دست بدهند (Chudasama et al. 2012). به منظور به حداقل رساندن اثرهای منفی این سم‌ها، استفاده از روش‌های مدیریتی جایگزین شامل مبارزه زیستی و استفاده از محصولات طبیعی برای القای مقاومت و یا با فعالیت‌های مستقیم ضد میکروبی، در حال توسعه می‌باشند (Frassinetti et al. 2011). ایران از لحاظ آب و هوا، موقعیت جغرافیایی و زمینه رشد گیاهان دارویی یکی از بهترین مناطق جهان محسوب می‌گردد و در گذشته هم منبع تولید و مصرف گیاهان دارویی بوده است. در این راستا استفاده از ترکیبات طبیعی گیاهان جهت کنترل بیماری‌های گیاهی، مورد توجه پژوهشگران زیادی قرار گرفته است (Omidbeygi et al. 2007). کاربرد اسانس‌های گیاهان دارویی علاوه بر توانایی مهار بیماری‌های گیاهی، باعث کاهش هزینه‌ها شده و از تخریب محیط زیست ممانعت می‌کند. از این رو در این پژوهش اثر ضدباکتریایی هشت گیاه دارویی، جهت تعیین میزان کارایی آن‌ها در مدیریت بیماری شانکر مرکبات مورد بررسی قرار گیرد تا بتوان در صورت امکان جایگزین مناسبی برای سم‌های شیمیایی معرفی نمود.

Materials and Methods

مواد و روش‌ها

اسانس‌های گیاهی

اسانس‌های گیاهان بومادران (*Achillea millefolium* L.)، زنجبیل (*Zingiber officinale* Roscoe)، بابونه (*Anthemis tinctoria* L.)، رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.)، مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.)، گون (*Astaraglus gossypinus* Fisch.)، مرزه (*Satureja hortensis* L.) و هل (*Elettaria cardamomum* (L.) Maton) از شرکت باریج اسانس تهیه شد.

بیمارگر

سویه M15 باکتری *X. citri* subsp. *citri* (پاتوتیپ A*) عامل شانکر مرکبات که قبلاً از لیموترش آلوده در منطقه باشت استان کهگیلویه و بویر احمد جداسازی و بر اساس آزمون‌های بیوشیمیایی و تشخیص ملکولی شناسایی شده بود (Heydarpanah et al. 2020) و سویه استاندارد LMG9322 به عنوان نماینده پاتوتیپ A استفاده گردیدند.

آزمایش اثر ضد باکتریایی اسانس‌های گیاهان در شرایط آزمایشگاه

برای تهیه سوسپانسیون باکتری، از باکتری‌های خالص شده روی محیط آگار مغذی (NA) به مقدار مورد نیاز با لوپ سترون برداشته شد و در لوله فالکون حاوی ۳۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی سترون حل و سوسپانسیون یکنواختی از باکتری‌های مورد آزمایش به دست آمد. سپس غلظت سوسپانسیون باکتری با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر با جذب ۰/۵ تعیین گردید. مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری حاوی 10^6 cfu/ml سلول باکتری، روی محیط کشت Nutrient Broth ریخته و به‌وسیله لوله L شکل به طور کامل پخش گردید. بعد از خشک شدن سطح محیط روی دیسک‌های کاغذی سترون به قطر شش میلی‌متر غلظت‌های مناسب از اسانس‌های گیاهان ریخته شد، به‌طوری که سطح دیسک‌های کاغذی با اسانس کاملاً آغشته گردید. از دیسک آنتی‌بیوتیک جنتامایسین (۱۰ میکروگرم) به عنوان کنترل مثبت و دیسک حاوی ۱۵ میکرولیتر آب مقطر سترون به عنوان کنترل منفی استفاده شد. دیسک‌های حاوی اسانس، کنترل مثبت و منفی در سه تکرار روی محیط کشت قرار داده شدند. برای جلوگیری از تبخیر ترکیبات فرار، پتری‌دیش‌ها به‌وسیله پارافیلیم پوشانده و سپس تشتک‌های پتری در دمای ۲۷ درجه سلسیوس درون انکوباتور قرار داده شد. بعد از ۴۸ تا ۷۲ ساعت هاله بازدارنده اطراف دیسک‌های کاغذی مشاهده گردید که برحسب میلی‌متر اندازه‌گیری انجام شد (Cowan 1999).

تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)

برای تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی اسانس‌ها از روش سری دو برابر رقت لوله‌ای در محیط کشت مغذی استفاده شد. برای این منظور یک سری ۱۱ عددی لوله آزمایش درنظر گرفته شد. در همه لوله‌ها از غلظت ۵۰۰ تا ۰/۴۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر اسانس با محیط کشت تهیه شد. سپس ۵۰ میکرولیتر از غلظت 10^6 cfu/ml به هر کدام از لوله‌ها مایه‌زنی شد. تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. برای هر تکرار، یک لوله کنترل منفی فاقد باکتری و یک لوله کنترل مثبت فاقد اسانس تهیه شد. تمامی لوله‌ها به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگهداری شدند و پس از طی این مدت، لوله‌ها از نظر کدورت حاصل از فعالیت و رشد باکتری مورد بررسی ماکروسکوپی قرار گرفتند. حداقل غلظت مهارکنندگی رشد برای لوله‌ای در نظر گرفته شد که حاوی کمترین غلظت اسانس بود و کدورت قابل ملاحظه‌ای در آن ایجاد نشده بود. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی، از لوله‌هایی که در آن‌ها کدورت قابل مشاهده دیده نمی‌شد روی محیط کشت جامد نوترینت براث آگار کشت داده شد. تمامی تشتک‌های پتری به مدت ۲۴ ساعت در دمای متناسب با رشد باکتری مورد نظر نگهداری شدند. کمترین غلظتی که هیچ رشدی از باکتری‌ها در آن مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته شد (Kalpana and Prakash 2016).

آزمایش اثر اسانس‌ها بر شدت بیماری در شرایط گلخانه

نهال‌های لیموترش گواهی شده از نهالستانی واقع در شهرستان باشت تهیه گردیدند. خاک مورد استفاده از سه قسمت مساوی کود حیوانی، خاک زراعی و ماسه بود که در کیسه‌های نشاء با دستگاه اتوکلاو موجود در گلخانه گیاه‌پزشکی چهار بار با فشار بخار آب سترون گردید و به مدت سه هفته برای بازسازی بافت خاک، در گلخانه نگهداری شدند. تمام نهال‌ها در گلدان‌های هم‌شکل و هم‌اندازه ۱۰ کیلوگرمی کاشته و به مدت یک ماه در شرایط گلخانه نگهداری و هر دو روز یک‌بار آبیاری شدند. به منظور بررسی اثر اسانس‌های مختلف در کنترل بیماری شانکر مرکبات، برگ‌های نهال لیمو از گلخانه به آزمایشگاه منتقل شدند. مایه‌زنی برگ‌ها در شرایط سترون با سوسپانسیون کشت تازه باکتری با غلظت 10^7 cfu/ml و به روش سوزن‌زنی (pin-prick method) انجام گردید (Samavi et al. 2009). قبل از مایه‌زنی، اسانس‌ها و در تیمار شاهد آب سترون اسپری به برگ گردید. برگ‌های مایه‌زنی شده در اتاقک رشد با دمای ۲۵-۲۸ درجه سلیسوس، رطوبت ۷۰-۹۰ درصد و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند (Lin et al. 2008). بعد از دو هفته تعداد لکه‌ها شمارش گردید.

Results

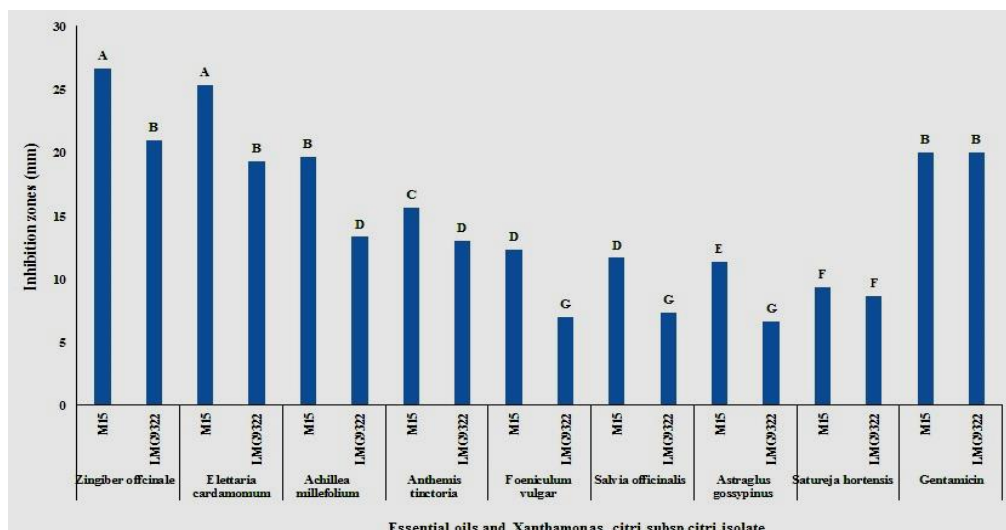
یافته‌ها

تاثیر بازدارندگی اسانس‌ها بر جدایه‌های بیمارگر در شرایط آزمایشگاه

کلیه اسانس‌های گیاهی مورد بررسی روی جدایه *X. citri* subsp. *citri* (LMG 3922) اثر بازدارندگی داشتند. در این سویه تاثیر اسانس‌های زنجبیل (با میانگین قطر هاله بازدارندگی ۲۱ میلی متر) و هل (با میانگین قطر هاله بازدارندگی ۱۹.۳ میلی متر) به طور معنی‌داری بیشتر از سایر اسانس‌ها بود ($p < 0.01$). کمترین اثر مربوط به اسانس‌های گون، مریم‌گلی و رازیانه بود. کلیه اسانس‌های گیاهی روی جدایه *X. citri* subsp. *citri* (M15) پاتوتیپ A* دارای اثر بازدارندگی بودند. در این میان بیشترین اثر مربوط به اسانس‌های زنجبیل (با میانگین قطر هاله بازدارندگی ۲۶.۶ میلی متر) و هل (با میانگین قطر هاله بازدارندگی ۲۵.۳ میلی متر) بود، که این اسانس‌ها از دیسک جنتامایسین نیز تاثیر بیشتر و بهتری داشتند و کمترین تاثیر مربوط به اسانس مرزه بود (شکل ۱).

حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) اسانس‌های مختلف

اسانس‌های مختلف بر جدایه LMG3922 دارای اثر بازدارندگی بودند. اسانس‌های هل و زنجبیل با کمترین غلظت دارای بالاترین اثر کشندگی و با غلظت ۷/۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارای حداقل غلظت مهارکنندگی بودند. اسانس‌های بومادران و بابونه با غلظت ۱۵/۶۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارای حداقل اثر مهارکنندگی بودند. اسانس‌های رازیانه، مرزه، گون و مریم‌گلی با غلظت ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارای کمترین اثر کشندگی و با غلظت ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر کمترین اثر مهارکنندگی را داشتند. همچنین تمام اسانس‌های گیاهی بر جدایه M15 اثر بازدارندگی داشتند. اسانس هل و زنجبیل با کمترین غلظت دارای بیشترین اثر باکتری‌کشی و با غلظت ۳/۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارای حداقل غلظت مهارکنندگی بودند. اسانس‌های رازیانه، گون و مریم‌گلی با غلظت ۶۲/۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر دارای کمترین اثر کشندگی و با غلظت ۳۱/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر حداقل غلظت مهارکنندگی را داشتند (جدول ۱).



شکل ۱. تاثیر بازدارنده اسانس‌های مختلف بر حسب میلی‌متر علیه سویه‌های M15 و LMG9322 باکتری *Xanthomonas citri* subsp. *citri*

Figure 1. Inhibition zones (mm) of different essences against *Xanthomonas citri* subsp. *citri* strains M15 and LMG9322

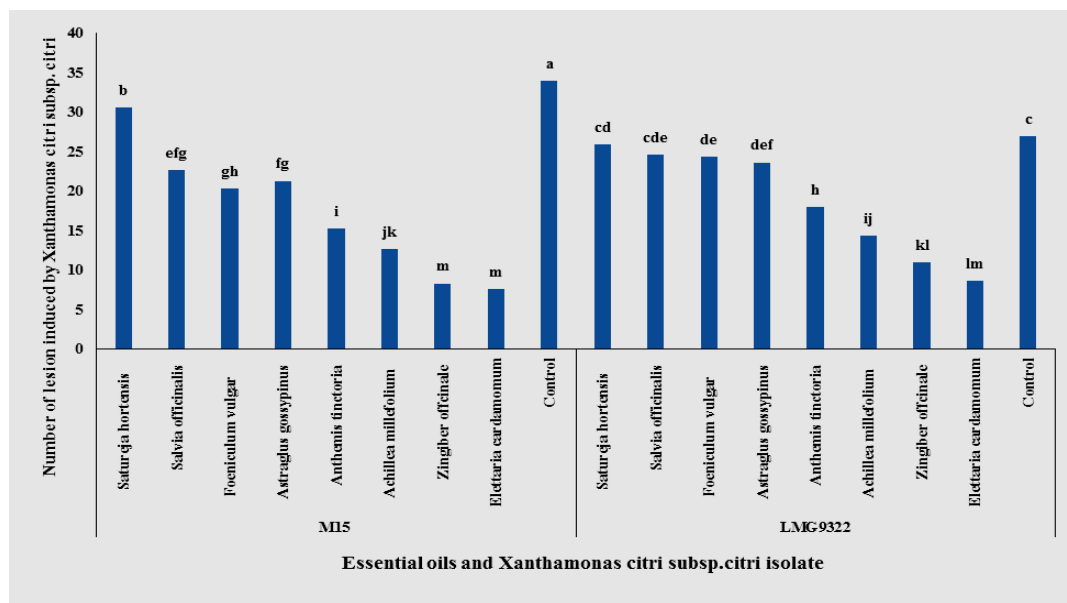
اثر اسانس‌ها بر شدت بیماری در شرایط گلخانه

بررسی شدت بیماری‌زایی سویه‌های M15 و LMG3922 باکتری عامل شانکر مرکبات نشان داد که سویه M15 به عنوان نماینده پاتوتیپ A* در مقایسه با سویه LMG3922 به عنوان نماینده پاتوتیپ A به طور معنی‌داری ($p < 0.01$) سبب ایجاد لکه‌های نکروز بیشتر در برگ‌های مایه‌زنی شده گردید (شکل ۲). همه اسانس‌های مورد استفاده به طور نسبی سبب کاهش تعداد لکه‌های نکروز در برگ لیموی مایه‌زنی شده با

جدول ۱. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس‌های مختلف بر علیه باکتری *Xanthomonas citri* subsp. *citri*

Table 1. Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of different essences against *Xanthomonas citri* subsp. *citri*

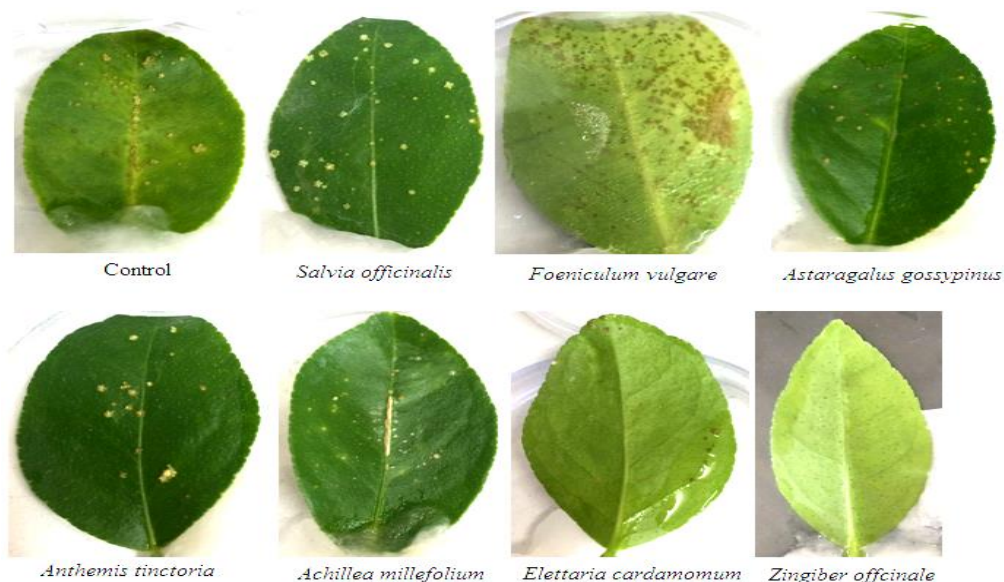
Plant Essential oil	<i>X. citri</i> subsp. <i>citri</i> (LMG3922)		<i>X. citri</i> subsp. <i>citri</i> (M15)	
	MIC µg/ml	MBC µg/ml	MIC µg/ml	MBC µg/ml
<i>Elettaria cardamomum</i>	7.81	15.62	1.95	3.9
<i>Zingiber officinale</i>	7.81	15.62	1.95	3.9
<i>Foeniculum vulgare</i>	62.5	125	31.25	62.5
<i>Satureja hortensis</i>	62.5	125	62.5	125
<i>Astragalus gossypinus</i>	62.5	125	31.25	62.5
<i>Achillea millefolium</i>	15.62	31.25	7.81	15.62
<i>Anthemis tinctoria</i>	15.62	31.25	15.62	31.25
<i>Salvia officinalis</i>	62.5	125	31.25	62.5



شکل ۲. تاثیر اسانس‌های هشت گیاه بر تعداد لکه ایجاد شده توسط سویه‌های M15 و LMG3922 باکتری *Xanthomonas citri* subsp. *citri*

Figure 2. Effect of eight essences on number of lesion induced by *Xanthomonas citri* subsp. *citri* strains M15 and LMG9322

سویه M15 گردیدند (شکل ۳). اسانس‌های مرزه و مریم‌گلی تاثیر معنی‌داری در کاهش بیماری‌زایی سویه LMG3922 نداشتند. بیشترین کاهش بیماری‌زایی در هر دو سویه با اسانس‌های هل و زنجبیل حاصل گردید.



شکل ۳. تاثیر اسانس‌های هشت گیاه بر تعداد لکه ایجاد شده در برگ لیمو مایه‌زنی شده با جدایه M15 باکتری *Xanthomonas citri* subsp. *citri*

Figure 3. Effect of different essences on number of lesion in *Citrus aurantifolia* leaf inoculated with strain M15 *Xanthomonas citri* subsp. *citri*.

بحث

Discussion

استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی ضدباکتریایی، از جمله روش‌های جایگزین سم‌های شیمیایی و آنتی بیوتیک‌ها می‌باشد. در پژوهش حاضر مشخص گردید که اسانس‌های مورد آزمایش دارای اثر بازدارندگی و مهارکنندگی بر علیه باکتری *Xanthomonas citri* subsp *citri* می‌باشند. یافته‌ها نشان داد اسانس‌های هل و زنجبیل با کمترین غلظت دارای بیشترین اثر کشندگی و مهارکنندگی بر علیه باکتری عامل شانکر مرکبات با پاتوتیپ‌های مختلف می‌باشند. پژوهش‌ها بسیار محدودی در خصوص تاثیر اسانس‌های مورد آزمایش در پژوهش حاضر بر علیه باکتری عامل شانکر مرکبات انجام پذیرفته است. بر اساس آنالیز فیتوشیمیایی مشخص شده که فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های گیاهی ناشی از وجود مواد و ترکیباتی از قبیل فنل‌ها و پلی‌فنل‌ها، کوئینون‌ها، فلاون‌ها، فلاونوئیدها، فلاونول‌ها، تانن‌ها، کومارین‌ها، ترپنوئیدها، آلکالوئیدها و یا مخلوطی از این مواد می‌باشد (Cowan 1999). در پژوهشی کارآیی ضد باکتریایی عصاره‌های به دست آمده از ریشه، بذر، برگ‌های تازه و خشک گیاه علفی *Hydnocarpus anthelmintica* در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفته است. بر این اساس عصاره‌های به دست آمده از برگ‌های خشک، کم‌ترین و عصاره‌های به دست آمده از بذر و ریشه بیشترین فعالیت آنتی‌باکتریایی علیه باکتری عامل شانکر مرکبات از خود نشان دادند (Boonywanich et al. 1998). کاربرد محلول اسانس چریش روی شاخ و برگ نیز، درصد شیوع بیماری را در نهالستان‌های مرکبات کاهش داد (Reddy and Rao 1960). در پژوهشی دیگر عصاره‌های پنج گیاه *Tamarindus indica*، *Hibiscus sabdariffa*، *Psidium guajava*، *Punica granatum* و *Spondia spinnata* جهت کنترل شانکر باکتریایی مرکبات در سطح گلخانه و مزرعه مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس یافته‌ها به دست آمده برگ‌های لیمو ترش تیمار شده با عصاره تمر هندی کمترین میزان نشانه‌های مرتبط با بیماری را نشان دادند (Leksomboon et al. 2001). همچنین فعالیت ضد میکروبی عصاره برگ گیاهان *Euphorbia heterophylla* و *Tamilnadia uliginosa* جهت مبارزه با بیماری شانکر مرکبات مورد بررسی قرار گرفته است. یافته‌ها نشان داده است که بیشترین قطر بازدارندگی مربوط به عصاره *T. uliginosa* می‌باشد (Kalpana and Prakash 2016). در پژوهشی اثر اسانس‌های مختلف مانند نارنج، علف لیمو، رازیانه، کاج، کندر و ریحان در کنترل باکتری *Xanthomonas citri* subsp. *citri* مورد بررسی قرار گرفته است. یافته‌ها این پژوهش نشان داد که بیشترین اثر بازدارندگی را اسانس نارنج داشته است (Sauer et al. 2015). مشخص شده است که اسانس‌های نارنج و ماندارین به خوبی از رشد باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی مانند *Xanthomonas citri* subsp. *citri* جلوگیری می‌کنند (Frassinetti et al. 2011). در پژوهشی دیگر فعالیت ضد باکتریایی اسانس مرزنجوش بر باکتری عامل بیماری شانکر باکتریایی مرکبات مورد بررسی قرار گرفته است. در این پژوهش اسانس نمونه با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج گردیده است و اثر ضدباکتریایی اسانس با روش نشت در دیسک مورد ارزیابی قرار گرفته است. یافته‌ها نشان داده است که اسانس مرزنجوش به عنوان یک ترکیب بالقوه بیماری شانکر باکتریایی مرکبات را کنترل می‌نماید (Shahivand et al. 2017).

نتیجه‌گیری

Conclusion

بیماری شانکر باکتریایی مرکبات در ایران از مناطق مختلف گزارش شده و با توجه به خطرات استفاده مکرر از ترکیبات شیمیایی جهت کنترل بیماری، بایستی از روش‌های جایگزین که خطری برای سلامت انسان ندارند،

استفاده کرد. این بیماری در ایران بسیار شایع است و تهدید جدی برای درختان لیموترش به شمار می آید؛ بنابراین، مدیریت این بیماری در مناطق مرکبات خیز اجتناب ناپذیر است. تمامی اسانس های مورد استفاده در پژوهش حاضر اثر بازدارندگی بر علیه جدایه های بیمارگر شانکر مرکبات در شرایط گلخانه و آزمایشگاه داشتند. یافته ها این پژوهش پیشنهاد می کند که می توان از اسانس ها و عصاره های برخی از گیاهان به ویژه هل و زنجبیل در مدیریت بیماری شانکر استفاده نمود.

Acknowledgement

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه یاسوج با شماره گرنت Gryu-89121101 انجام شده است. بدین وسیله نویسنده مراتب سپاس و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه اعلام می دارد.

References

منابع

1. Chudasama KS, Thaker VS (2012) Screening of potential antimicrobial compounds against *Xanthomonas campestris* from 100 essential oils of aromatic plants used in India: An ecofriendly approach. Archives of Phytopathology and Plant Protection 45:783-795.
2. Cowan MM (1999) Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiological Reviews 12:564-582.
3. Deng Z, Xu L, Li D, Long G, Liu L, Fang F, Shu G (2010) Screening citrus genotypes for resistance to canker disease (*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*). Plant Breeding 129:341-345.
4. Frassinetti S, Caltavuturo L, Cini M, Della Croce CM, Maserti BE (2011) Antibacterial and antioxidant activity of essential oils from *Citrus* spp. Journal of Essential Oil Research 23:27-31.
5. Graham JH, Gottwald TR, Cubero J, Achor DS (2004) *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*: Factors affecting successful eradication of citrus canker. Molecular Plant Pathology 5:1-15.
6. Heydarpanah S, Rezaei R, Taghavi SM, Charehgani H (2020) Efficacy of different copper compounds in the control of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* pathotypes A and A. Journal of Phytopathology 168:73-80.
7. Kalpana B, Prakash M (2016) Antibacterial activity of leaf extracts of *Euphorbia hetrophylla* L. and *Tamilnadia uliginosa* (Retz.) Tirveng. And Sastre against *Xanthomonas campestris* pv. *citri*. International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology 3:135-138.
8. Khodakaramian G, Swings J, Vancaneyt M, Van Eygen S (2000) Fatty acid profiles of the strains of bacteria inducing citrus canker and spot diseases by gas liquid chromatography. Iranian Journal of Plant Pathology 36:197-206.

9. Leksomboon CH, Thaveechai N, Kositratana W (2001) Potential of plant extracts for controlling citrus canker of lime. *Kasetsart Journal (Natural Science)* 35:392-396.
10. Lin HC, Chang H and T-zeng KC (2008) Characterization of novel strains of citrus canker bacterium from citrus in Taiwan. *Journal of Taiwan Agriculture Research* 57:265-278.
11. Omidbeygi M, Barzegar M, Hamidi Z, Naghdibadi H (2007) Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control* 18:1518-1523.
12. Reddy GS, Rao AP (1960) Control of canker in *citrus* nurseries. *The Andhra Agricultural Journal* 7:11-13.
13. Samavi S, Hassanzadeh N, Faghihi M, Rezaee Danesh Y (2009) Effects of Thyme (Zaatar) Essential oil and some chemical compounds in the control of citrus bacterial canker in Iran. *Journal of Plant Pathology* 91:691-696.
14. Sauer AV, Santos EM, Gonçalves-Zuliani AM, Nocchi PT, Nunes WM, Bonato CM (2015) Bacteriostatic and Bactericidal Activity In Vitro of Different Essential Oils as Alternative Treatments to Control *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. *Acta Horticulturae* 1065:931-936.
15. Shahivand M, Rezaei Ahmadabadi M, Bazgir E, Yazdani Bioki R (2017). Study on antibacterial effect of marjoram (*Origanum vulgare* L) essential oil on bacteria causing citrus canker. *Journal of Microbial World* 10:69-79. (In Persian with English Abstract).

Research Article

Frocasting and monitoring system of date palm bunch feding in Khozestan province

Masoud Latifian^{1✉}, Esmaeil Rahkhodaei²

1- Agricultural and Natural Resources Research and Education Center,
AREEO, Horticultural Science Research Institute, Karaj, Iran

2- Agricultural and Natural Resources Research and Education Center,
AREEO, Fars, Iran

Received: 29.12.2019

Accepted: 29.02.2020

Latifian M , Rahkhodaei E (2020) Frocasting and monitoring system of date palm
bunch feding in Khozestan province. Plant Pathology Science 9(1):40-56. DOI:
10.2982/PPS.9.1.40.

Abstract

Introduction: Bunch feding is an important injurious disease of date palm.

Materials and Methods: This research was carried out to its descision making system
in Abadan-Khoramshhar, Shadegan, Ahwaz, Mahshar and Behbahan regions of
Khozestan province by climatic and geoststistical models from 2012 to 2016. Samples
were taken randomly from 10 trees located in one date palm orchards of any villages

Results:Results showed that the disease damage reached to the peak values in
September. Forecasting model of damage factors have been significant at level 1 and
5 percent. Variography of distributions on different sites were calculated that the
model nuggets for date palm bunch feding in Abadan - Khoramshhar, Shadegan,
Ahwaz, Mahshar and Behbahan regions were 1.6, 1.7, 0.15, 0.51 and 2.5 kilometers
respectively. These results show that errors of the damage estimation were low at the
distances less than whithin sampling sapace. Effective ranges of variograms were 4.1.
12.9, 4.7, 1.9 and 11.06 respectively which indicated the date palm bunch feding
distribution in region. Sill of models were 0.49, 0.76, 0.37, 0.31, and 0.51 respectively
that at the distances more than these thresholds, correlations between the injury data
were at the lowest level and could be monitored. **Conclusion:** The results of this study
were the basic steps in creating a decision making system in date palm protection
network. According to the results of this research, the bunch feding damage can be
properly monitored, forecasted and controlled before the maximum damage occurs.

Keywords: Date palm, Bunch feding, Forcasting, Monitoring

✉ masoud_latifian@yahoo.com

مقاله پژوهشی

سیستم پیش‌آگاهی و ردیابی بیماری خشکیدگی خوشه خرما در استان خوزستان

مسعود لطیفیان^۱✉، اسماعیل راهخدایی^۲

۱- سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم باغبانی،

پژوهشکده خرما و میوه‌های گرمسیری، کرج، ایران

۲- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات،

آموزش و ترویج کشاورزی، فارس، ایران

دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۰۸

پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۱۰

لطیفیان م، راهخدایی ا (۱۳۹۸) سیستم پیش‌آگاهی و ردیابی بیماری خشکیدگی خوشه خرما در استان

خوزستان. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۹(۱): ۵۶-۴۰. DOI: 10.2982/PPS.9.1.40.

چکیده

مقدمه: بیماری خشکیدگی خوشه از مهم‌ترین عوامل خسارت‌زای نخل خرما می‌باشد. هدف از انجام این پژوهش ایجاد سیستم تصمیم‌گیری در مدیریت بیماری با استفاده از مدل‌های آب و هوایی و زمین‌آمار برای پیش‌آگاهی و ردیابی بیماری در استان خوزستان بود. **مواد و روش‌ها:** در مناطق مورد مطالعه استان خوزستان از داده‌های ۵ ساله شبکه مراقبت نخیلات این استان استفاده گردید. برای برآورد درصد آسیب بیماری از هر روستا یک نخلستان به صورت تصادفی انتخاب و در طول فصل نمونه‌برداری انجام شد. **یافته‌ها:** یافته‌ها نشان داد که آسیب بیماری از حدود فروردین ماه آغاز شد و به تدریج با گرم شدن هوا بر شدت آن افزوده شد. مدل رگرسیون برازش شده برای پیش‌آگاهی در کلیه مناطق در سطح ۱ و ۵ درصد معنی‌دار بود. تغییرنمای پراکنش بیماری خشکیدگی خوشه خرما نشان داد میزان اثر قطعه در این مدل به ترتیب در مناطق آبادان - خرمشهر، شادگان، ماهشهر، اهواز و بهبهان معادل ۲/۵، ۰/۵۱، ۰/۱۵، ۱/۷ و ۱/۶ بوده و نشان دهنده کم بودن خطای برآورد شدت آسیب بیماری در فواصل کمتر از فاصله نمونه‌برداری بود. دامنه تغییر نمای پراکنش به ترتیب معادل ۴/۱، ۱۲/۹، ۴/۷، ۱/۹ و ۱۱/۰۶ کیلومتر بود و در فواصل بیشتر از این حد کم‌ترین همبستگی بین داده باقی می‌ماند. آستانه مدل به ترتیب معادل ۰/۳۱، ۰/۳۷، ۰/۷۶ و ۰/۴۹ بود که نشان دهنده نسبتی از ناحیه مورد مطالعه می‌باشد که با خطای معادل نوگت یا کمتر از آن بیماری قابلیت ردیابی داشت. **نتیجه‌گیری:** یافته‌ها این پژوهش گامی اساسی در ایجاد سیستم تصمیم‌گیری در زمینه مدیریت این بیماری در شبکه مراقبت نخیلات است. براساس یافته‌ها این پژوهش، بیماری خشکیدگی به نحو مناسبی قابل ردیابی، پیش‌آگاهی و مدیریت قبل از وقوع حداکثر آسیب آن است.

واژگان کلیدی: خرما، بیماری خشکیدگی خوشه، پیش‌آگاهی، ردیابی

Introduction

مقدمه

بیماری پژمردگی و خشکیدگی خوشه خرما برای اولین بار در سال ۱۳۶۸ از شهرستان کهنوج گزارش گردید. این بیماری در چند ساله اخیر یکی از مهمترین معضلات تولیدکنندگان خرماي کشور بویژه در

✉ masoud_latifian@yahoo.com

مناطق عمده تولید آن شامل استان‌های کرمان، هرمزگان، بوشهر، خوزستان، سیستان و بلوچستان و فارس بوده و خسارت قابل توجه و اقتصادی به این محصول وارد نموده است. میزان خسارت بیماری در نخلستان‌های مناطق آلوده و در سال‌های مختلف از صفر تا ۸۵٪ در نوسان بوده است (Davoodian, Karampour 2010 and). اکثریت ارقام مرغوب و تجاری کشور نظیر مضافتی، خاصی، کبکاب، مرداسنگ، برخی و استعمران نسبت به این بیماری حساس هستند که مهمترین علائم و ویژگی‌های آن پژمردگی ناگهانی میوه‌ها و خوشه‌های خرما در زمان تبدیل میوه از مرحله خارک به رطب و نهایتاً خشکیدگی میوه‌ها و خوشه‌های آلوده، ظهور نوارهای قهوه‌ای رنگ روی قسمت فوقانی یا گاه‌تحتانی دم خوشه است. در برخی ارقام ضمناً هیچ گونه علائمی روی برگ، تنه و تاج درختان آلوده مشاهده نمی‌گردد. پژمردگی سریع و ناگهانی میوه‌ها در طی مدت ۲-۳ روز و خشکیدن تمامی آنها طی مدت ۱ تا ۲ هفته، از مهمترین علائم بیماری می‌باشد (Qadir et al. 2020). از سال ۱۳۷۱ تاکنون بررسی‌های متعددی در زمینه شناخت عامل یا عوامل ایجاد این بیماری و راهکارهای مدیریت و یا کاهش خسارت آن توسط محققان مناطق مختلف کشور انجام شده است. طی سال‌های ۱۳۷۹ تا ۱۳۸۳، ۲۱ طرح پژوهشی در قالب ۶۰ آزمایش در چهار استان کرمان، هرمزگان، خوزستان و بوشهر انجام شد. یافته‌ها این پژوهش‌ها نشان داد عوامل بیماری‌زای گیاهی مثل قارچ‌ها، باکتری‌ها، فیتوپلاسماها، ویروس‌ها و ویروئیدها عامل ایجاد کننده بیماری نبوده و عوامل آب و هوایی به‌ویژه افزایش دما، کاهش ناگهانی رطوبت نسبی هوا و وزش بادهای گرم و خشک در مرحله تبدیل خارک به رطب به عنوان عامل اصلی در بروز و تشدید بیماری معرفی گردیدند. همچنین قارچ *Thielaviopsis sp.* می‌تواند در شرایط تنش گرمایی و خشکی باعث تشدید بیماری گردد. از طرف دیگر کلیه راهکارهایی که با هدف تعدیل شرایط حرارتی و رطوبتی در نخلستان و افزایش مقاومت درختان خرما به تنش‌های محیطی (به‌ویژه تنش‌های گرمایی و خشکی) صورت گرفته است باعث کاهش خسارت بیماری گردیده است (Davoodian and Karampour 2010).

تأثیر متقابل میزبان و عوامل بیمارگر پیچیده است و پیش‌گویی آن‌ها بدون استفاده از مدل‌های ریاضی میسر نمی‌باشد (Latifian and Solymannejadian 2002). به طور کلی در استفاده از مدل‌ها برای پیش‌آگاهی خسارت بیماری‌ها دو روش کلی به شرح زیر وجود دارد. در روش اول داده‌های حرارتی و مدل‌های رگرسیون چند متغیره مورد استفاده قرار می‌گیرند (Russo et al. 1993, Russo 2000). در روش دوم داده‌ها از ایستگاه نماینده منطقه تهیه می‌گردند. هر دو مدل نیاز به استفاده از یکسری داده نرمال آب و هوایی دارند. این داده‌ها در مدل پایه فنولوژیکی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Schaub 1996). از بعد زمانی نیز پیش‌آگاهی‌ها به دو طریق طولانی مدت و کوتاه مدت انجام می‌شوند (Sharov 1996). استفاده از مدل‌های زمین آماری به عنوان روشی نوین در مدیریت تلفیقی بیماری‌ها در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. تلاش‌های زیادی برای مشخص کردن الگوهای اختصاصی پراکنش عوامل بیمارگر انجام شده ولی در آن‌ها به محل‌های نمونه‌برداری که عامل تعیین کننده پراکنش می‌باشد، توجه نشده است (Journel and Huijbregts 1978, Story and Congalton 1994). پیشرفت‌های اخیر در این زمینه از جمله مدل‌های زمین آمار به مقدار زیادی از مشکلات موجود کاسته است (Goovaets 1997). استفاده از پراکنش مکانی در مدیریت تلفیقی آفات، مدیریت تلفیقی مکان ویژه آفات (Site-specific integrated pest management) یا IPM دقیق (Precision IPM) گفته می‌شود که به استفاده از نقشه‌های پراکنش بیماری‌ها و کاربرد اقدامات مدیریتی تکیه دارد (Park et al. 2007).

Sciarretta and Trematerra 2014). در دهه ۱۹۶۰ روش‌های متعددی برای تعیین الگوی پراکنش مکانی عوامل خسارت‌زای گیاهی توسعه یافتند که معمول‌ترین آن‌ها شاخص‌های توزیع (Distribution Indices) بودند. این شاخص‌ها روی توزیع فراوانی نمونه‌ها تأکید داشتند و موقعیت مکانی نمونه‌ها را مد نظر قرار نمی‌دادند. این پژوهش برای ایجاد نظام مدیریت تلفیقی دقیق و ایجاد سیستم پیش‌آگاهی و ردیابی بیماری خشکیدگی خوشه خرما در منطقه انجام شد؛ زیرا از مشکلات مدیریت این بیماری می‌توان به تقویمی بودن تاریخ مدیریت و نداشتن سیستم تصمیم‌گیری اشاره کرد. از آنجا که تعیین دقیق زمان مدیریت در اثر بخشی روش انتخاب شده در زمان و مکان‌های مختلف متفاوت است؛ بنابراین توصیه‌های مدیریت در زمان و مکان براساس یک برنامه تقویمی ثابت اثربخشی روش‌های مدیریت را کاهش می‌دهد.

Materials and Methods

مواد و روش‌ها

زمان و مکان اجرای پژوهش و داده‌های هواشناسی

این پژوهش با استفاده از داده‌های شبکه مراقبت استان خوزستان در طی سال‌های ۱۳۹۰ تا سال ۱۳۹۵ به مدت ۵ سال در منطقه خوزستان در شهرستان‌های آبادان، خرمشهر، شادگان، اهواز، ماهشهر و بهبهان انجام گرفت. داده‌های هواشناسی از طریق ایستگاه‌های هواشناسی مناطق جمع‌آوری و در طراحی مدل مورد استفاده قرار گرفت. برای این منظور ۳۳ عامل به شرح جدول ۱ استفاده شد.

جدول ۱. شاخص‌های آب و هوایی مورد بررسی در مدل‌های پیش‌آگاهی بیماری خشکیدگی خوشه خرما.

Table 1. Studied Climatic parameters in forecasting models of date palm bunch feeding.

Meteorological index	Symbol	Meteorological index	Symbol
Average spring temperature	X ₁	Total spring rainfall	X ₁₈
Average summer temperature	X ₂	Total summer rainfall	X ₁₉
Average last winter temperatures	X ₃	Number of rainy months	X ₂₀
Average last autumn temperature	X ₄	Total rainfall in March	X ₂₁
Average last year temperature	X ₅	Total rainfall in April	X ₂₂
Maximum temperature is last February	X ₆	Average last year relative humidity	X ₂₃
Maximum temperature is last March	X ₇	Average humidity of the most wet months	X ₂₄
Maximum the year temperature	X ₈	Average humidity in the driest month	X ₂₅
The highest temperature in the warmest month of the year	X ₉	Average humidity of last autumn	X ₂₆
Minimum temperature is coldest month	X ₁₀	Relative humidity in last winter	X ₂₇
Temperature in the rainiest month	X ₁₁	Average spring humidity	X ₂₈
Temperature in the lowest rainy month	X ₁₂	Average summer humidity	X ₂₉
Total last year rain	X ₁₃	Average humidity of last February	X ₃₀
Rain of the rainiest month	X ₁₄	Average humidity last March	X ₃₁
Temperature in the lowest rainy month	X ₁₅	Total rainfall in March	X ₃₂
Total rainfall in autumn last	X ₁₆	Average April Humidity	X ₃₃
Total last winter rainfall	X ₁₇		

برآورد آسیب بیماری

برای برآورد درصد آسیب بیماری خشکیدگی خوشه از هر روستا یک نخلستان به صورت تصادفی انتخاب و در طول فصل نمونه‌برداری انجام شد. در هر نخلستان تعداد ۱۰ نفر نخل بررسی شده و تعداد خوشه‌های سالم و آسیب دیده و درصد آسیب محاسبه شد. در هر درخت خوشه‌های آلوده و سالم مشخص گردیده و شدت آسیب به شرح جدول ۲ درجه‌بندی شدند (Latifian and Rad 2017):

جدول ۲. درجه‌بندی شدت آسیب خوشه‌های خرما در هر درخت

Table 2. Grading the injury severity of date bunch in each tree

Injury quality	Selected code	Injury percent
Healthy	0	No injury
Low	1	1 to 25
Medium	2	26-50
High	3	51-75
Intense	4	Up to 75

سپس شدت آلودگی در هر درخت با رابطه $DI = a + 2b + 3c + 4d / n$ محاسبه شد. شدت آلودگی در هر نخلستان معادل میانگین شدت آلودگی ۱۰ نفر نخل خرما نمونه‌برداری شده بود. در این رابطه $a =$ تعداد خوشه‌های با آلودگی کم، $b =$ تعداد خوشه‌های با آلودگی متوسط، $c =$ تعداد خوشه‌های با آلودگی زیاد، $d =$ تعداد خوشه‌های با آلودگی شدید و $n =$ تعداد کل خوشه‌های هر درخت بود. (Latifian and Rad 2017). برای تکمیل اطلاعات برآورد آسیب از کارشناسان فعال در شبکه مراقبت نخیلات منطقه در مدیریت حفظ نباتات استان خوزستان طی سال‌های مطالعه استفاده شد.

مدل پیش‌آگاهی

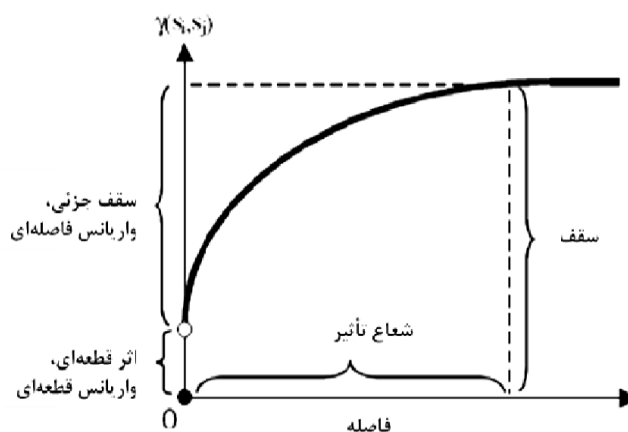
اثرات عوامل آب و هوایی بر روی نوسانات آسیب با محاسبه ضریب همبستگی بین آسیب و آمار هواشناسی ارزیابی شد. سپس حداکثر آسیب به عنوان تابعی از عوامل آب و هوایی در یک معادله رگرسیون چند متغیره گنجانیده شده و ضرایب عوامل آب و هوایی در ماه‌های مختلف قبل از رسیدن به حداکثر آسیب برآورد شد. تعدیل تعداد عوامل، آنالیز رگرسیون چند عاملی به طریق مرحله‌ای (Stepwise regresion) انجام شد. برای انجام محاسبات آماری و طراحی مدل‌ها از نرم‌افزار کرو اکسپرت (Curve Expert) و SPSS استفاده شد. مدل‌های کروی (Spherical)، نمایی (Exponential)، خطی (Linear)، خطی تا سیل (Linear to sill) و گوسی (Gusian) برای داده‌های هر منطقه به صورت جداگانه برازش (به فرآیند تعیین یک منحنی یا تابع ریاضی که بیشترین شباهت را به داده‌ها داشته باشد اصطلاحاً «برازش منحنی یا مدل» (Curve/model Fitting) گفته می‌شود) شدند (Manion 2003).

مدل ردیابی

برای ردیابی از روش زمین آمار استفاده شد (Story and Congalton 1994, Wright et al. 2002). چنانچه Z مقدار آسیب باشد، در دو نقطه به فاصله مشخص h اختلاف مقادیر آسیب به صورت $[Z(x_i) - Z(x_i+h)]$ برآورد می‌شود. اختلاف مقدار آسیب در نقطه X و کلیه نقاط دیگر که به فاصله h از آن قرار گرفته‌اند، برای ردیابی بیماری ضروری است. هر گاه فرض شود که جمعاً تعداد $N(h)$ زوج نمونه که به فاصله h از یکدیگر واقع‌اند در دست باشد، آنگاه خواهیم داشت.

$$\hat{\gamma}(h) = \frac{1}{2N(h)} \sum_{i=1}^{N(h)} [Z(x_i) - Z(x_i + h)]^2$$

در رابطه فوق $\hat{\gamma}(h)$ را سمی واریانس یا واریانس ساختار فضایی می‌نامند. این تابع می‌بایستی بر اساس اطلاعات بیماری خشکیدگی در نخلستان‌های نمونه‌برداری شده به دست آید (Journal and Huijbregts 1978). فاصله‌ای که میزان سمی واریانس به حد ثابتی می‌رسد اصطلاحاً دامنه تأثیر می‌نامند. دامنه تأثیر فاصله‌ای است که در بیشتر از آن نمونه‌ها بر هم تأثیری نداشته و مستقل از یکدیگر محسوب می‌شوند. وریوگرام یا تغییرنما معمول‌ترین ابزار زمین‌آماري در تجزیه مکانی می‌باشد که در آن نمودار واریانس ساختار فضایی به عنوان تابعی از فاصله در مقابل h (فاصله) رسم می‌شود. مقدار واریانس ساختار فضایی در مبدا صفر نیست، تغییرنماها از مرکز مختصات محور سمی واریانس عبور نمی‌نمایند بلکه از نقطه‌ای می‌گذرند که فاصله آن با مبدا محور مختصات را اصطلاحاً اثر ناگهانی و یا اثر قطعه‌ای می‌نامند (Goovaerts 1997). اثر قطعه‌ای یا ناگت (Nugget) (C_0)، دامنه یا شعاع تأثیر (Range) (a)، سقف (Sill) و سقف جزئی (Partial sill) اجزای تغییرنما هستند (شکل ۱) که در تجزیه مکانی و تعیین نوع توزیع مورد استفاده قرار می‌گیرند. اثر قطعه‌ای به مقدار واریانس ساختار فضایی در مبدا ($h=0$) اطلاق می‌شود. دامنه، حداکثر فاصله‌ای است که در آن نمونه‌ها دارای وابستگی مکانی هستند و بیشتر از این فاصله، رابطه‌ای بین مقادیر نمونه‌ها وجود ندارد و نمونه‌ها مستقل می‌باشد (Clark 2001). تمام شاخص‌های زمین‌آماري با استفاده از اطلاعات ارائه شده در شکل یک محاسبه شدند.



شکل ۱. اجزای تغییرنما در زمین‌آمار.

Figure 1. The components of a variogram in geostatistics .

کریجینگ (Kriging)، نقشه برآورد متغیرهای مکانی بوده و تابع خطی مجموعه مشاهدات توزیع شده واقع در همسایگی یک نقطه‌ای نمونه‌برداری است (Wright et al.2002 ,Goovaerts 1997).

$$\hat{Z}(x) = \sum_{i=1}^N \lambda_i Z(x_i)$$

در این رابطه $\hat{Z}(x)$ مقدار برآورد آسیب بیماری در نقطه x ، $Z(x_i)$ مقدار عددی آسیب بیماری در نقطه x_1 و i وزن آماری نوعی سنجش گرایش به مرکز است، در محاسبه وزنی آماری یک مجموعه عامل‌های نابرابر، برای هر یک از عامل‌ها (وزن یا ارزش معینی در نظر گرفته می‌شود و سپس آن عامل در وزن معین

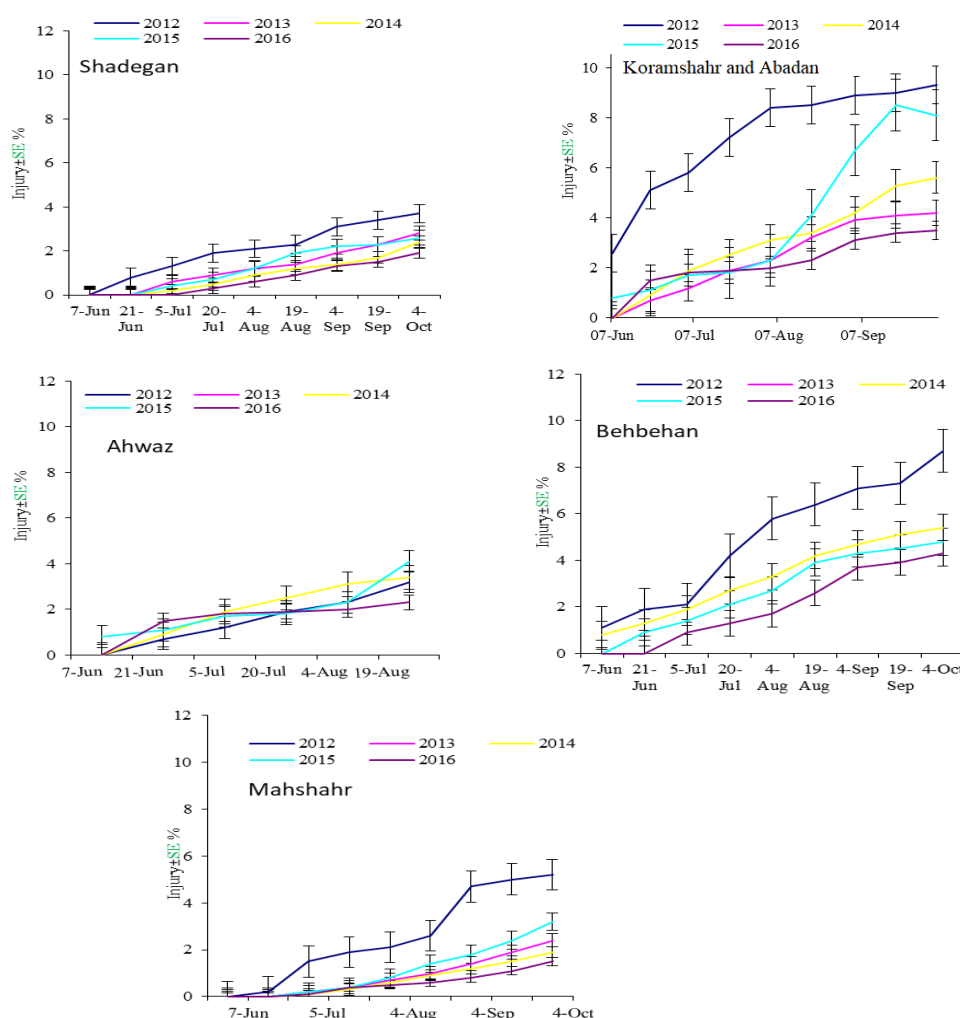
ضرب می‌گردد) است که به نمونه $Z(X_i)$ واقع در همسایگی نقطه X اختصاص می‌یابد. منظور از همسایگی نقاطی است که به فاصله مشخصی از یک نقطه فرضی قرار گرفته‌اند. در این رابطه n بیانگر تعداد نمونه‌برداری است. در کریجینگ به مجموعه نمونه‌ها به گونه‌ای وزن آماری داده می‌شود که ترکیب خطی آنها نه تنها نااریب شود بلکه در بین سایر تخمین‌گرهای خطی حداقل واریانس را نیز داشته باشد (Katherine 2001). برای انتخاب بهترین مدل، از مجموع مربعات باقی مانده ها (RSS= Residual sums of squares) و ضریب تبیین R استفاده شد و مدل‌های با RSS حداقل و R حداکثر انتخاب شدند (Karimzadeh et al. 2011).

Results

یافته‌ها

تغییرات فصلی آسیب بیماری خشکیدگی خوشه خرما

تغییرات فصلی آسیب بیماری در مناطق مطالعه در شکل ۲ نشان داده شده است. اوج وقوع آسیب بیماری



شکل ۲. تغییرات فصلی آسیب بیماری خشکیدگی خوشه خرما در مناطق مختلف استان خوزستان.

Figure 2. Seasonal fluctuation of date palm bunch feeding injury in different regions of Khuzestan province.

در مناطق مختلف متفاوت بوده و متناسب با شرایط فنولوژیکی رشد، بیماری تغییر نشان می‌داد. آسیب این بیماری در هر سال از حدود اوایل تیر ماه آغاز گشته و به تدریج با گرم شدن هوا بر شدت آن افزوده می‌گردید. به طوری که در حدود مرداد، بیماری به حداکثر مقدار رسید.

مدل پیش‌آگاهی

گام اول: بررسی روابط همبستگی

یافته‌ها همبستگی آسیب بیماری خشکیدگی خوشه خرما با عوامل آب و هوایی در جدول ۳ ملاحظه می‌شود. براساس یافته‌ها شاخص‌های (درجه حرارت پرباران‌ترین ماه سال) X_{11} ، (مجموع بارندگی پاییز سال قبل) X_{16} ، (متوسط رطوبت نسبی سال قبل) X_{24} و (متوسط رطوبت خشک‌ترین ماه سال) X_{26} و آسیب بیماری خشکیدگی خوشه دارای رابطه همبستگی متوسط تا قوی بوده‌اند؛ بنابراین می‌توان از آن‌ها در مدل‌سازی پیش‌آگاهی بیماری استفاده نمود.

گام دوم: تعیین روابط رگرسیون چند متغیره

یافته‌ها برازش مدل رگرسیون چند متغیره به طریق مرحله‌ای در جدول ۴ درج گردیده است. براساس یافته‌ها مدل رگرسیون برازش شده در ماهشهر ($F=1.25$)، اهواز ($F=1.64$) و بهبهان ($F=4.57$) در سطح ۱ درصد و در منطقه آبادان-خرمشهر ($F=1.64$) و شادگان ($F=6.08$) در سطح ۵ درصد معنی‌دار است.

جدول ۳. بررسی میزان همبستگی تغییرات فصلی آسیب بیماری خشکیدگی خوشه خرما با پارمترهای هواشناسی.

Table 3. Correlation of seasonal variations of date palm bunch feeding injury with meteorological parameters

Area Name	Meteorological parameter	Correlation coefficient	t (N-1)	Significance level
Khoramshahr - Ababdan	X11	0.2	0.35	0.74
	X16	-0.5	-0.17	0.87
	X24	-0.7	-1.69	0.18
	X26	-0.6	-1.29	0.28
Shadegan	X11	0.1	0.17	0.87
	X16	-0.9	-3.57	0.03
	X24	-0.82	-2.48	0.08
	X26	-0.5	-0.75	0.50
Mahshahr	X11	0.3	0.54	0.62
	X16	-0.6	-1.29	0.28
	X24	-0.51	0.17	0.87
	X26	-0.7	-1.69	0.18
Ahwaz	X11	0.3	0.54	0.62
	X16	-0.49	-0.17	0.87
	X24	-0.7	-1.69	0.18
	X26	-0.6	-1.29	0.28
Behbahan	X11	0.4	0.58	0.69
	X16	-0.5	-1	0.39
	X24	-0.9	-3.57	0.03
	X26	-0.61	0.35	0.08

جدول ۴. برازش متغیرهای مدل رگرسیونی پیش‌آگاهی آسیب بیماری خشکیدگی خوشه خرما

Table 4. Regression Model Variables of Prediction of date palm bunch feeding Injury

Area Name	Independent variables	The coefficients of the factors	Standard error
Khoramshahe - Ababdan	Intercpt	47.63	3.22
	X ₂₄	-1.14	0.65
	X ₂₆	0.19	0.22
Shadegan	Intercpt	14.32	4.68
	X ₁₆	0.01	0.02
	X ₂₄	-0.37	0.18
	X ₂₆	0.16	0.09
Mahshahr	Intercpt	0.43	5.81
	X ₁₆	0.01	0.01
	X ₂₄	-0.09	0.08
	X ₂₆	0.05	0.11
Ahwaz	Intercpt	47.6	23.22
	X ₂₄	-1.26	0.75
	X ₂₆	0.41	0.46
Behbahan	Intercpt	55.52	23.17
	X ₂₄	-1.12	0.69
	X ₂₆	0.41	0.37

با توجه به جدول ۴ مدل پیش‌آگاهی عوامل بیماری خشکیدگی خوشه خرما به شرح زیر برازش گردید.

$$\begin{aligned}
 \text{Khoramshahr - Abadan} \quad I &= 0.19 X_{26} - 1.14 X_{24} + 47.63 \\
 \text{Shadegan} \quad I &= 0.16 X_{26} - 0.37 X_{24} + 0.01 X_{16} + 14.32 \\
 \text{Behbahan} \quad I &= 0.41 X_{26} - 1.12 X_{24} + 55.52 \\
 \text{Mahshahr} \quad I &= 0.05 X_{26} - 0.09 X_{24} + 0.01 X_{16} + 0.43 \\
 \text{Ahwaz} \quad I &= 0.41 X_{26} - 1.12 X_{24} + 47.6
 \end{aligned}$$

مدل ردیابی

گام اول: برازش مدل زمین‌آماري

تغییرنمای پراکنش بیماری (جدول ۵) نشان دهنده وجود یک روند مناسب در سطح مناطق مختلف استان خوزستان بود. میزان اثر قطعه که معادل خطای مدل بوده از طریق مقدار واریانس ساختار فضایی در مبدا محاسبه شده، در این مدل به ترتیب در مناطق آبادان- خرمشهر، شادگان، ماهشهر، اهواز و بهبهان معادل ۲/۵، ۰/۵۱، ۰/۱۵، ۱/۷ و ۱/۶ بوده که نشان دهنده کم بودن خطای برآورد شدت آسیب در فواصل کمتر از فاصله نمونه‌برداری در مناطق بود. دامنه تغییرنمای پراکنش به ترتیب در مناطق آبادان و خرمشهر، شادگان، ماهشهر، اهواز و بهبهان معادل ۴/۱، ۱۲/۹، ۴/۷، ۱/۹ و ۱۱/۰۶ کیلومتر بود که در فواصل بیشتر از این حد کم‌ترین همبستگی بین داده باقی ماند. آستانه مدل به ترتیب در مناطق آبادان- خرمشهر، شادگان، ماهشهر، اهواز و بهبهان معادل ۰/۵۱، ۰/۳۱، ۰/۳۷، ۰/۷۶ و ۰/۴۹ بود که نشان دهنده نسبتی از ناحیه مورد مطالعه بود که با خطای معادل اثر قطعه‌ای (شکل ۱) یا کمتر از آن شدت بیماری خشکیدگی خوشه خرما در آن قابلیت ردیابی داشت.

گام دوم: نقشه کریجینگ

برای تخمین شدت آسیب بیماری خشکیدگی خوشه خرما در مناطق مورد بررسی، نقشه کریجینگ بیماری در مناطق مختلف در شکل ۳ درج گردیده است. با توجه به نقشه کریجینگ بدست آمده برای برنامه ریزی مدیریت مدیریت بیماری خشکیدگی خوشه چهار گروه منطقه‌ای آلودگی (Pathosystem) برای آن در نظر گرفته شد که شامل گروه‌های زیر می‌باشند. پاتوسیستم اول، مناطق قرمز کم رنگ نقشه که شامل مناطق کم خطر بودند. در این گروه درجه آلودگی کمتر از ۱۰ درصد بود. پاتوسیستم دوم، منطقه سبز و آبی رنگ نقشه شامل مناطق با خطر متوسط می‌باشند. در منطقه بهبهان هرچند تفاوت‌هایی در آلودگی وجود داشته که با شدت و ضعف رنگ آبی نشان داده شده است؛ اما به طور کلی براساس روش زمین آمار در گروه با آلودگی متوسط قرار گرفته و تفاوت‌ها معنی‌دار نبود. این گروه درجه آلودگی بین ۱۰ تا ۲۰ متغیر بود. پاتوسیستم سوم، منطقه زرد که شامل مناطق با خطر زیاد می‌باشد. در این گروه درجه آلودگی بین ۲۱ تا ۳۰ متغیر بود. پاتوسیستم چهارم، مناطق سیاه رنگ که شامل مناطق با خطر بسیار زیاد می‌باشد. در این گروه درجه آلودگی بالاتر از ۳۰ درصد بود. این مناطق کانون‌های آلودگی را نشان می‌دادند. مهار بیماری در این منطقه در ابتدای فصل برای جلوگیری از دامنه انتشار و کاهش شدت آلودگی سایر مناطق از اهمیت خاصی برخوردار است.

جدول ۵. مدل‌های تغییرنمای پراکنش مکانی بیماری خشکیدگی خوشه خرما در استان خوزستان.

Table 5. Spatial variogram models of date palm bunch feeding in Khuzestan province.

Area Name	Fit model	Nugget	Sill	Range
KHoramshar - Abadan	Spherical	2.5	0.51	4.1
	Exponential	2.7	0.47	4.3
	Linear	3.03	0.23	12.7
	Linear to Sill	2.69	0.39	4.1
	Gusian	3.04	0.67	4.2
Shadegan	Spherical	0.6	0.17	8.3
	Exponential	0.51	0.31	12.9
	Linear	0.71	0.18	6.6
	Linear to Sill	0.77	0.18	8.4
	Gusian	0.72	0.34	11.8
Mahshahr	Spherical	0.19	0.59	5.1
	Exponential	0.18	0.96	5.1
	Linear	0.19	0.35	1.7
	Linear to Sill	0.17	0.76	4.7
	Gusian	0.15	0.37	4.7
Ahwaz	Spherical	1.7	0.76	5.1
	Exponential	1.8	0.76	2.7
	Linear	1.8	0.51	2.4
	Linear to Sill	1.9	0.76	3.6
	Gusian	2.3	0.83	2.5
Behbahan	Spherical	4.1	0.49	11.6
	Exponential	1.6	0.43	4.4
	Linear	5.3	0.36	6.5
	Linear to Sill	5.2	0.48	8.6
	Gusian	6.7	0.40	4.2

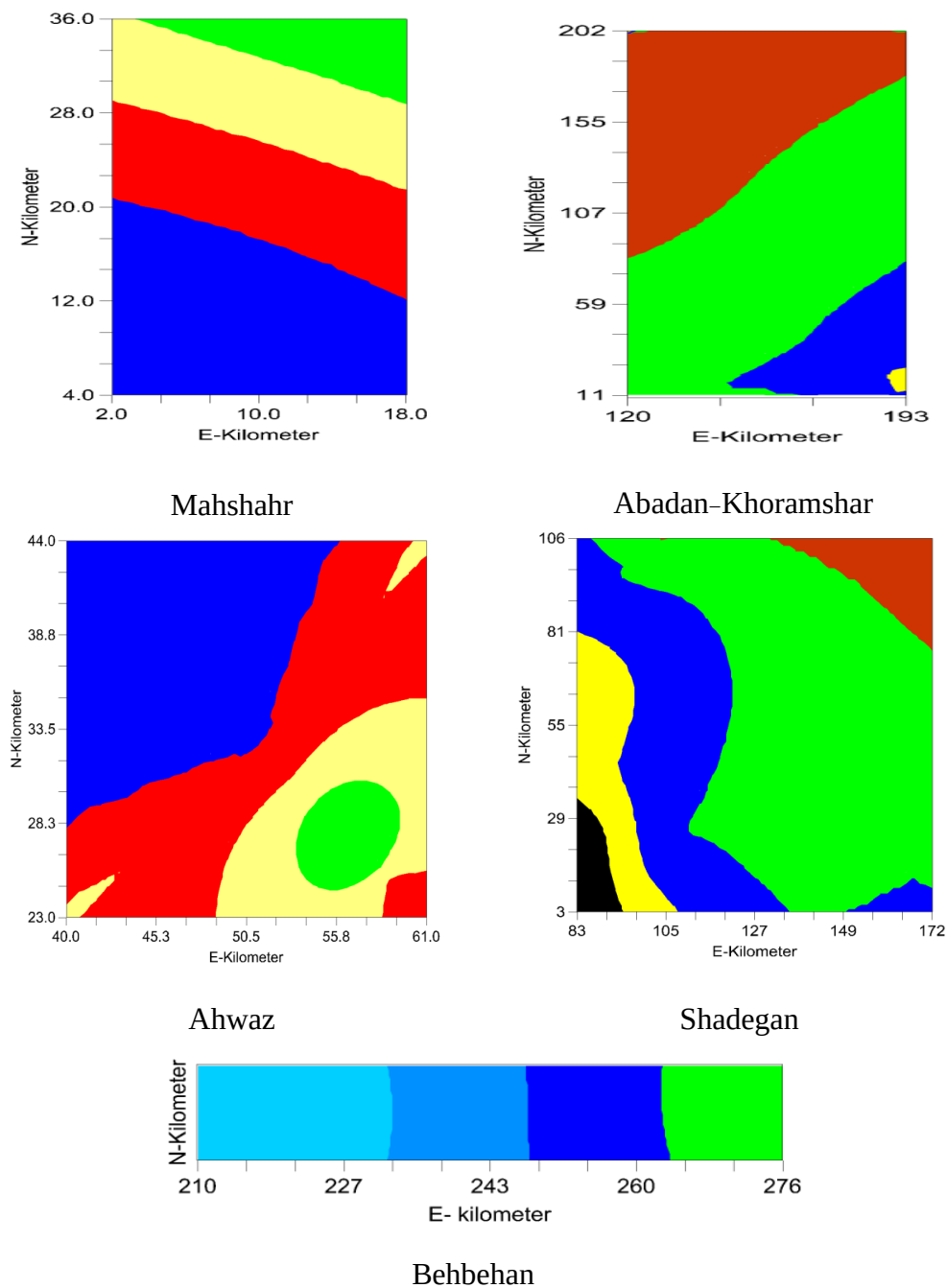
در تمام مدل‌های پیش‌آگاهی و ردیابی ضریب تبیین بالاتر از ۰/۷ و خطای تشخیص کم‌تر از ۲۵ درصد بود؛ به عبارت دیگر ۲۵ درصد احتمال دارد که خطایی بروز کند و در سایر موارد اگر خطایی محرز گشت مدل می‌تواند آن را تصحیح کند. طرح‌های تشخیص و تصحیح خطا باعث افزایش کارایی مدل در استفاده از داده‌های شبکه مراقبت نخیلات منطقه در سیستم تصمیم‌گیری می‌شود. این موضوع نشان دهنده کاربردی بودن مدل‌ها در شبکه مراقبت نخیلات منطقه می‌باشد. براساس این نقشه‌ها، ظهور آسیب یا شیوع آن به نخلستان‌های هر منطقه مشخص شده و در تاریخ‌های نمونه برداری بعدی، جمعیت به تدریج در نخلستان‌های هر منطقه پخش شده است. آگاهی از رفتار مکانی بیماری خشکیدگی خوشه خرما در درجه اول برای طراحی الگوی صحیح نمونه‌برداری مهم است. در صورت نداشتن هیچ اطلاعاتی از ساختار مکانی آسیب در منطقه مورد مطالعه، بهترین الگو از نظر کاهش واریانس، روش زمین‌آمار می‌باشد چون از تمام قسمت‌های هر منطقه نمونه برداشته می‌شود و بیشترین اطلاعات از نمونه‌برداری به دست می‌آید. در این بررسی، اطلاعاتی از مقیاس وابستگی مکانی بیماری مورد نظر در نخلستان‌های انتخاب شده در هر منطقه وجود نداشت. در شکل ۳ مقدار E و N به ترتیب نشان دهنده فاصله عرض و طولی نقاط مختلف نمونه‌برداری از نقطه شروع نمونه‌برداری در نقطه مبدا دارای طول و عرض جغرافیایی به ترتیب معادل ۳۲/۰۸ و ۴۸/۱۲ بود. در این شکل برای تجزیه مکانی داده‌ها، درجه آسیب بیماری خشکیدگی خوشه در شبکه به مرکز شبکه که معادل نقطه مبدا بود، نسبت داده شد.

Discussion

بحث

تغییرات شدت آسیب بیماری خشکیدگی خوشه خرما از سال ۱۳۹۰ تا سال ۱۳۹۵، وقوع مداوم آن را در مناطق مورد مطالعه نشان می‌دهد. فراوانی شدت آسیب بیماری در طول دوره نمونه‌برداری و در سال‌های مطالعه در نوسان بود. به طوری که از مرداد تا شهریور فراوانی آسیب به اوج می‌رسید و در همه مناطق مورد مطالعه این روند یکسان بود. در ماه‌های دیگر، اختلاف بین تراکم شدت آسیب تفاوت ناچیزی نشان داد (شکل ۲). علاوه بر این، عملکرد مدل‌های رگرسیونی پیش‌بینی شده هر سال برآزش خوبی را نشان دادند. یافته‌ها آزمون همبستگی نشان داد عوامل آب و هوایی که منجر به افزایش درگیری نخل خرما با این بیماری می‌شوند شامل درجه حرارت پرباران‌ترین ماه سال، مجموع بارندگی پاییز سال قبل، متوسط رطوبت نسبی سال قبل و متوسط رطوبت خشک‌ترین ماه سال بودند. نظیر این مطالعه در رابطه با کرم میوه‌خوار خرما *Batrachedra amydraula* Meyer و شپشک سفید خرما *Parlatoria blanchardi* Targ در ایران و در استان خوزستان انجام شده است. در این پژوهش‌ها نیز نظیر یافته‌ها این پژوهش استفاده از زمین‌آمار در ردیابی جمعیت موفقیت آمیز بوده و مدل‌های خطی چند متغیره آب و هوایی به روش قابل قبولی از نظر آماری و کاربردی توانایی پیش‌آگاهی تغییرات تراکم جمعیت آن‌ها را داشتند (Latifian and Zare 2003, 2009).

در تکوین سیستم‌های مدیریت تلفیقی بیماری‌های گیاهی از پیش‌آگاهی برای تصمیم‌گیری صحیح استفاده می‌شود. برای این منظور از مدل‌های مختلفی استفاده می‌شود (Madden and Ellis 1988, Dent 1995). کاربردی‌ترین این مدل‌ها که در این پژوهش نیز مورد استفاده قرار گرفت، مدل تغییرات تطبیق فنولوژیکی با شرایط آب و هوایی است. در مدل‌های پیش‌آگاهی فنولوژیکی وقایع بیولوژیکی دوره‌ای بیماری‌ها در رابطه با تغییرات فصلی در شرایط آب و هوایی و رشد میزبان مورد بررسی قرار گرفته و از



شکل ۳. نقشه کریجینگ پراکنش شدت آسیب بیماری خشکیدگی خوشه خرما در مناطق مختلف استان خوزستان.

Figure 3. Kriging map of distribution of date palm bunch feeding in different regions of Khuzestan province

رابطه‌های به دست آمده جهت پیش‌آگاهی بیماری استفاده می‌گردد (Gendi 1998, Loiselle 2003, Mawby and Gold 1984).

در ایران در رابطه با آفات خرما مطالعاتی انجام شده که یافته‌ها مشابهی داشته است (Latifian 2014, Latifian and Zare 2003, Latifian and Solymannejadian 2002). مقایسه یافته‌ها نشان می‌دهد

که در اکثر موارد، مدل‌های لجیستیکی در بررسی روابط عوامل آب و هوایی با تغییرات پارامترهای جمعیتی آفات (Loiselle 2003) و مدل‌های رگرسیون خطی چند متغیره در پیش‌بینی تغییرات شدت آسیب نسبت به عوامل متعدد آب و هوایی (Latifian and Solymannejadian 2002, Latifian and Zare 2003) از کارایی لازم برخوردار بوده‌اند. یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که در شیوع بیماری خشکیدگی خوشه خرما شاخص‌های هواشناسی مرتبط با دما و رطوبت از اهمیت بالایی برخوردار بوده است.

در مدل واریوگرافی بیماری خشکیدگی خوشه خرما مقدار خطا در مناطق مختلف حدود $4/1 - 0/15$ درصد بود که از نظر کاربردی در برنامه مدیریت تلفیقی مدیریت قابل قبول است. این مدل‌ها با دقت مناسبی بروز بیماری خشکیدگی خوشه خرما در مناطق آبادان، شادگان، اهواز خرمشهر و بهبهان پیش‌بینی کرده‌اند. مناطقی نزدیک آبادان و شادگان الگوی توزیع مناسب‌تری برای بیماری نشان می‌دهند. عوامل مختلفی نظیر اقلیم، ارتفاع منطقه، دریافت ژنتیکی ارقام و غیره از نیروی غالب در تعیین نوع در ساختار مکانی یک بیماری یا آفت می‌باشند (Sciarretta and Trematera 2014). لازم است نقش این عوامل در بروز اختلاف در الگوی پراکنش بیماری خشکیدگی خوشه خرما در مناطق مختلف در پژوهش‌های آینده مورد بررسی قرار گیرند. نقشه‌های کربجینگ نشان دهنده وجود بیماری با شدت آسیب متفاوت بوده اما سطح مناطق با ضریب خطر پایین در کل منطقه کم بود (شکل ۳). شیوع این بیماری از یک سال به سال دیگر متفاوت است، اما شیوع آن در پاتوسیستم‌های گروه چهارم که کانون‌های عفونت جدید هستند، در طول پنج سال انجام پژوهش وجود داشته است. با تجزیه و تحلیل نقشه‌ها به طور واضح همبستگی خاصی میان شدت آسیب بیماری در کانون‌های آلودگی با شدت کل بیماری مشاهده شد. به طوری که با افزایش سطح کانون‌های آلودگی، بر وسعت مناطق با خطر زیاد و متوسط افزوده شده است.

در این بررسی در برخی از تاریخ‌های نمونه برداری، مقدار اثر قطعه‌ای یا ناگت خیلی بزرگ بود. همان طور که از تعریف سمی واریانس و تغییرنا استنباط می‌شود به طور نظری مقدار اثر قطعه‌ای باید به سمت صفر میل کند زیرا بین نمونه و خودش واریانس وجود ندارد ولی در عمل، مقادیر غیر صفر ناگت در داده‌ها به فراوانی یافت می‌شوند که می‌تواند ناشی از عوامل متعددی مثل رفتار بیماری، غیر یکنواختی نخلستان‌های منطقه، بزرگ بودن شبکه نمونه برداری انتخاب شده یا خطای نمونه برداری باشد (Liebhold et al. 1993). احتمال داده می‌شود اگر شبکه‌های نمونه برداری کوچک‌تر انتخاب می‌شدند مقادیر ناگت کاهش پیدا می‌کرد. اما با توجه به وسعت منطقه نمونه برداری امکان انتخاب شبکه‌های کوچک‌تر وجود نداشت چون تعداد نمونه و به دنبال آن هزینه نمونه برداری به میزان قابل توجهی افزایش می‌یافت. مقایسه شاخص‌های مورد استفاده در ردیابی این بیماری با پژوهش‌های انجام شده نشان می‌دهد که روش زمین آمار در بیان پیش‌آگاهی، نحوه پراکنش و ردیابی بیماری خشکیدگی خوشه خرما در منطقه مورد مطالعه موفق بوده است (Young and Kwang- 2011, Caffarra et al. 2019, Hyung). نظیر چنین مدل‌های باید برای سایر بیماری‌های نخل خرما طراحی شود و سپس در برنامه‌های IPM به صورت عملیاتی مورد استفاده قرار گیرند. برنامه‌های IPM نیازمند یک رویکرد مؤثر و چارچوب تحلیلی برای تحلیل خطر بیماری می‌باشند. در این برنامه‌ها، ارزیابی شاخص‌های روند توسعه بیماری، فنولوژی رشد محصول (میزبان) و تأثیرات زیست محیطی روش‌های مدیریت مدیریت در کنار داده‌های آب و هوا و سایر متغیرهای اقلیمی برای ارزیابی و پیش‌بینی نحوه

گسترش بیماری ضروری است (Ojiambo et al. 2017). محدودیت‌های بکارگیری داده‌های مکانی پراکنش و استفاده محدود از فناوری‌های نظارت در سطح زیست بوم‌های کشاورزی از موانع گسترش سیستم‌های تصمیم‌گیری در مدیریت تلفیقی مدیریت عوامل خسارت‌زای گیاهی بوده است که با استفاده از روش‌های زمین‌آمار قابل بر طرف شدن است (Devadas et al. 2015, West and Kimber 2015, Mahlein 2016).

مطالعات مشابه در زمینه طراحی مدل‌های تأثیر آب و هوا بر روند توسعه بیماری‌های گیاهی انجام شده است. یافته‌ها نشان داده که نیاز اساسی برای استفاده کاربردی در این مدل‌ها، ارتقاء توانایی آن در تعیین پویایی بیماری گیاهی تحت مدیریت در مقیاس مکانی است. همچنین نیاز به چارچوب و مدل‌های جدیدی برای تلفیق مدل‌های پیش‌بینی تأثیر تغییرات آب و هوا بر بیماری‌های گیاهی در طی زمان با مدل‌های گسترش بیماری در مقیاس مکانی برای برنامه‌ریزی و تعیین استراتژی‌های مدیریت بیماری، سازگار با تغییرات آب و هوایی وجود دارد (Newberry et al. 2016, Riley et al. 2015). یافته‌های این پژوهش گامی مؤثر در جهت گسترش برنامه‌ریزی دقیق استراتژی‌های مدیریت بیماری خشکیدگی خوشه خرما با در نظر گرفتن نحوه پویایی آن در مقیاس زمانی و مکانی است.

Conclusion

نتیجه‌گیری

برای اصلاح الگوی مدیریت این بیماری، طراحی سیستم ردیابی و پیش‌آگاهی ضرورت دارد. به کمک مدل‌های برازش شده در این پژوهش ضمن امکان ردیابی بیماری، می‌توان قبل از وقوع حداکثر آسیب بیماری آن را پیش‌آگاهی نموده و مدیریت را به نحو مناسبی برنامه‌ریزی کرد. یافته‌ها این پژوهش در واقع گام‌های اساسی در ایجاد سیستم تصمیم‌گیری در شبکه مراقبت نخیلات است. هر سال هزینه‌های زیادی برای مدیریت این بیماری در نخلستان‌های کشور استفاده می‌شود که علاوه بر هزینه‌های خسارت اقتصادی مشکلات اقتصادی- اجتماعی دنبال دارد. بنابراین کاهش هزینه‌ها و در عین حال مدیریت مؤثر این بیماری، منافع اقتصادی و اجتماعی زیادی را به دنبال خواهد داشت. مدیریت مکان- ویژه بیماری راهکاری برای رسیدن به این اهداف می‌باشد. یافته‌های حاصل از این پژوهش نه تنها اطلاعات مهمی در زمینه بوم‌شناسی بیماری خشکیدگی خوشه خرما فراهم می‌کنند بلکه می‌تواند در مدیریت مکان- ویژه این بیماری نیز مورد استفاده قرار گیرند. یافته‌های این پژوهش در این موارد برای مدیریت تلفیقی مدیریت و شبکه مراقبت بیماری‌های نخیلات کاربرد دارد. (۱) تعیین شاخص‌های ردیابی و پیش‌آگاهی بیماری شامل ویژگی‌های خسارت‌زایی، تطابق فنولوژیکی با شرایط رشد محصول، ارزیابی اثرات خصوصیات خاک نخلستان بر بروز بیماری، تعیین اثرات بیوکلیمایی نظیر بارندگی، دما، باد و سایر عوامل و تأثیر تغییرات آن‌ها بر تغییرات شدت بیماری. (۲) تعیین استراتژی‌ها و الگوریتم‌های مدیریت، نظارت و پیش‌بینی بیماری برای تعیین خطر شیوع، تعیین مناطق آسیب دیده و سطح خسارت اقتصادی ناشی از بیماری. (۳) ایجاد یک سیستم هوشمند برای ارائه خدمات پایش بیماری شامل جمع‌آوری و پردازش داده‌ها و سرویس‌دهی به مدیریت منطقه‌ای نخلستان‌ها (نقشه‌های آسیب‌شناسی دوره‌ای). (۴) فراهم‌سازی اطلاعات لازم برای مدیریت بیماری در مدیریت حفاظت از نخیلات منطقه، خروجی‌های مدل‌های حاصل از این پژوهش برای پشتیبانی از تصمیم‌گیری حوزه حفظ نباتات به دولت، کلینیک‌های گیاه‌پزشکی، شرکت‌های تجاری عرضه نهاده‌های مدیریت بیماری و نخل‌داران کاربرد دارد.

References

منابع

1. Caffarra A, Donnelly A, Chuine B (2011) Modelling the timing of *Betula pubescens* budburst. II. Integrating complex effects of photoperiod into process-based models. *Climate Research* 46:159–170.
2. Dent D (1995) Integrated Pest Management. Chapman and Hall, London, 356p.
3. Devadas R, Lamb DW, Blackhouse D, Simpfendorfer S (2015) Sequential application of hyperspectral indices for delineation of stripe rust infection and nitrogen deficiency in wheat. *Precision Agriculture* 16:477-491.
4. Loiselle, BA, Howell CA, Graham CH, Goerck JM, Brooks T, Smith KG, Williams PH (2003) Avoiding pitfalls of using species distribution models in conservation planning. *Conservation Biology*, 17:1591-1600.
5. Gendi SM (1998) Population fluctuation of *Thrips tabaci* on onion plants under environmental condition. *Arab Universities Journal of Agriculture Science (Egypt)*. 69:267-276.
6. Goovaerts P (1997) Geostatistics for Natural Resources Evaluation. Oxford University Press, 512p.
7. Johnston KJ, Ver Hoef K, Krivoruchko M, Lucas N (2003). Using ArcGIS Geostatistical Analyst. ESRI Press, Redlands, CA.
8. Journel AG, Huijbregts CJ (1978) Mining Geostatistics. Academic Press. Inc. 599p.
9. Karimzadeh R, Hegazi MJ, Helali H, Iranpour S, Mohammadi SA (2011). Analysis of the spatio-temporal distribution of *Eurygaster integriceps* (Hemiptera: Scutelleridae) by using spatial analysis by distance indices and geostatistics. *Environmental Entomology* 40:1253-1265.
10. Karampour F, Davoodian A (2010) Study on effects of bunch covering on date palm bunch fading in Iran. In IV International Date Palm Conference 882:1219-1227.
11. Katherine AR (2001) Geostatistic using SAS software. Own analytic inc. Deep. River, CT, 6p.
12. Latifian M, Solymannejadian E (2002) Study of the lesser moth *Batrachedra amydraula* (Lep: Batrachedridae) distribution based on geostatistical models in Khuzestan province. *Journal of Entomological Research* 1:43-55.
13. Latifian M, Zare M (2003) The forecasting model of The Date Lesser moth (*Batrachedra amydraula*) based on climatic factors. *Journal of Agriculture Science* 2:27-36.
14. Latifian M, Zare M (2009) The effects of climatic factors on Date palm scale (*Parlatoria blanchardi* Targ.) (Hem.: Dispididae) in Khuzestan province. *Plant Protection Journal* 1:277-287
15. Latifian M (2014) Date palm spider mite (*Oligonychus afrasiaticus* McGregor) forecasting and monitoring system. *WALIA Journal* 30:79-85.

16. Liebhold AM, Rossi RE, Kemp WP (1993) Geostatistics and geographic information systems in applied insect ecology. *Annual Review of Entomology* 38:303-327.
17. Latifian M, Rad B (2017) Efficacy of cultural control for date palm borer management. *Indian Journal of Plant Protection* 45:7-11.
18. Madden LV, Ellis MA (1988) How to develop plant disease forecasters. Pp: 191-208. In: *Experimental Techniques in Plant Disease Epidemiology*. Springer, Berlin, Heidelberg.
19. Mahlein AK (2016) Plant disease detection by imaging sensors-parallels and specific demands for precision agriculture and plant phenotyping. *Plant Diseases* 100:241-251
20. Manion PD (2003) Evolution of concepts in forest pathology. *Phytopathology* 93:1052-1055.
21. Mawby WD, Gold HJ (1984) A stochastic simulation model for large-scale southern pine beetle (*Dendroctonus frontalis* Zimmerman) infestation dynamics in the southeastern United States. *Researches in Population Ecology* 26:275-283.
22. Newberry F, Qi A, Fitt BDL (2016) Modelling impacts of climate change on arable crop diseases: progress, challenges and applications. *Current opinion in plant biology* 32:101-109.
23. Ojiambo PS, Yuen J, Van den Bosch F, Madden LV (2017) Epidemiology: past, present and future impacts on understanding disease dynamics and improving plant disease management—A summary of focus issue articles. *Phytopathology* 107:1092-1094.
24. Park YL, Krell RK, Carroll M (2007) Theory, technology, and practice of site-specific insect pest management. *Journal of Asia Pacific Entomology* 10:89-101.
25. Russo JM, Liebhold AM, Kelley JGW (1993) Mesoscale weather data as input to a gypsy moth (Lepitoptera: Lymantriidae) phenology model. *Journal of Economic Entomology* 86:838-844.
26. Russo JM (2000) Weather forecasting for IPM. pp. 453-473. In: *Emerging Technologies For Integrated Pest Management: Concepts, Research, and Implementation*. American Phytopathological Society (APS) Press.
27. Sciarretta A, Trematerra P (2014) Geostatistical tools for the study of insect spatial distribution: practical implications in the integrated management of orchard and vineyard pests. *Plant Protection Science*, 50:97-110.
28. Schaub LP, Raulin FW, Gray DR, Logan JA (1995) Landscape framework to predict phenological events for gypsy moth (Lep: Lymantriidae) management programs. *Environmental Entomology* 24:10-18.
29. Sharov AA (1996) Sharov, A. A. (1996). Modelling forest insect dynamics. PP.293-303. In: E Ko-rpilahti EM, Mikkela T, Salonen (eds.). *Caring for the Forest: Research in a Changing World*. Congress Report.
30. Qadir A, Shakeel, F, Ali A (2020) Phytotherapeutic potential and pharmaceutical impact of *Phoenix dactylifera* (date palm): current research and future prospects. *Journal of Food Science and Technology* 57:119-1204.

31. Story M, Congalton RG (1994) Accuracy assessment: A user's perspective: LK Fenestermaleer. Remote sensing thematic assessment. American society for Photo-Grammetric and Remote Sensing 257-259.
32. West J, Kimber R (2015) Innovations in air sampling to detect plant pathogens. Annals of Applied Biology 166:4-17.
33. Wright RJ, Devries TA, Young LJ, Jarvi KJ, Seymout RC (2002) Geostatistical analysis of small-scale distribution of european corn borer Coleop: Carabidae larvae and damage in whorl stage corn. Environmental Entomology 31:160-167.
34. Young JK, Kwang-Hyung K (2019) An Integrated Modeling Approach for Predicting Potential Epidemics of Bacterial Blossom Blight in Kiwifruit under Climate Change. Plant Pathology Journal 35:459-472.



Review Article Scab diseases of apple and pear

LEILA EBRAHIMI✉

Aburaihan Campus, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 02.03.2020

Accepted: 10.08.2020

Ebrahimi L (2020) Scab diseases of apple and pear. Plant Pathology Science 9(1):57-67.

DOI: 10.2982/PPS.9.1.57

Abstract

Apple and pear scab diseases caused by *Venturia inaequalis* and *V. pyrina* are the most important economical diseases on these plants. These pathogens overwinter in the form of spherical pseudothecia on the remnants of infected leaves. However, in areas with mild winters, they remain as mycelium or conidia in buds and branches. Symptoms of the disease on the leaves are black spots with a velvety surface. In severe and early infections on fruits, deformity and cracks occur. Humidity and temperature are important and influential factors in the prevalence and severity of this disease. The disease will be severe in areas where the weather is cool and humid in spring and early summer. Symptoms of diseases, morphological characteristics of pathogens, disease cycles and disease management methods including resistant cultivars, horticultural sanitation, biological control, chemical control and their forecasting program are illustrated and discussed.

Keywords: Apple, Pear, Scab, Tebuconazole, *Trichoderma*, *Venturia*

✉ Le_ebrahimi@ut.ac.ir

مقاله مروری

بیماری‌های لکه سیاه سیب و گلابی

لیلا ابراهیمی ✉

پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۲۰

دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۱۲

ابراهیمی ل (۱۳۹۸) بیماری‌های لکه سیاه سیب و گلابی. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۹(۱): ۶۷-۵۷.

DOI:10.2982/PPS.9.1.57

چکیده

بیماری‌های لکه سیاه سیب و گلابی با عوامل *V. pyrina* و *Venturia inaequalis* مهم‌ترین بیماری قارچی این گیاهان به لحاظ اقتصادی هستند. این بیمارگرها به شکل سودوتسیوم‌های کروی شکل روی بقایای برگ‌های آلوده زمستانگذرانی می‌کنند. هر چند در مناطق با زمستان‌های معتدل، آنها به صورت میسلیم یا کنیدیوم در جوانه‌ها و شاخه‌ها نیز باقی می‌ماند. نشانه‌های بیماری روی برگ‌ها به شکل لکه‌های سیاه رنگ با سطح مخملی می‌باشد. در آلودگی‌های شدید و زود هنگام روی میوه‌ها، بدشکلی و ترک‌هایی ایجاد می‌شود. رطوبت و دما از عوامل مهم و تاثیرگذار در شیوع و شدت این بیماری می‌باشند. به‌طوری‌که در مناطقی که فصل بهار و اوایل تابستان هوا خنک و مرطوب باشد، خسارت بیماری شدید خواهد بود. نشانه‌های بیماری‌ها، خصوصیات ریخت‌شناسی بیمارگرها، چرخه بیماری‌ها و روش‌های مدیریت بیماری‌ها شامل رقم‌های مقاوم، بهداشت باغی، مبارزه زیستی، مبارزه شیمیایی و برنامه پیش‌آگاهی آنها شرح داده شده‌اند.

واژگان کلیدی: سیب، گلابی، لکه‌سیاه، تبوکونازول، *Venturia*, *Trichoderma*

مقدمه

سیب و گلابی از تیره گلسرخیان (*Rosaceae*) از درختان میوه دارای اهمیت اقتصادی در کشور هستند که در مناطق دارای آب و هوای خنک، به‌طور وسیع کشت شده‌اند. در ایران نیز قرن‌هاست که رقم‌های مختلف سیب و گلابی کشت می‌شود (Ashkan 2011). طبق آمارنامه محصولات باغبانی سال ۱۳۹۷، سطح زیر کشت سیب و گلابی در کشور به ترتیب ۲۴۵۲۷۲ و ۲۰۷۲۷ هکتار و میزان تولید این دو محصول ۲۹۴۴۱۰۱ و ۱۸۵۸۹۲ تن می‌باشد (Ahmadi et al. 2019). لکه سیاه سیب و گلابی به لحاظ اقتصادی از مهمترین بیماری‌های قارچی این درختان محسوب می‌شوند که سالانه خسارت زیادی را در مناطق مختلف دنیا به محصول وارد می‌کنند (Xu et al. 2008). خسارت بیماری تا ۷۰ درصد محصول گزارش شده است (Belete and Boyraz 2017).

۱- بیمارگرها

گونه‌های *Venturia Sacc.* اغلب بیمارگر درختان میوه و گیاهان زینتی هستند (Le Cam et al. 2002). گونه‌های مهم آن، *V. inaequalis* (Cooke) G.Winter (= *Spilocaea pomi* Fr.) و *V. pyrina* Aderh. (= *Fusicladium pyrorum* (Aderh.) Syd.) هستند که به‌ترتیب عامل بیماری‌های لکه سیاه سیب و

✉ Le_ebrahimi@ut.ac.ir

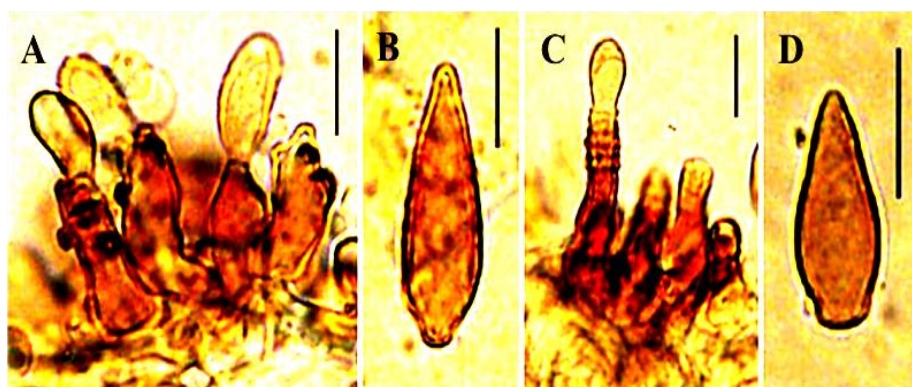
گلایی بوده، که در مناطقی که فصل بهار و اوایل تابستان هوا خنک و مرطوب باشد، خسارت این بیمارگرها شدید خواهد بود (Ashkan 2011, Ruszkiewicz-Michalska and Połec 2006, Xu et al. 2008). اسفندیاری در سال ۱۳۲۵، این دو گونه را برای اولین بار از ایران گزارش کرده است (Ershad 2009).

جنس‌های *Pollaccia* و *Fusicladium.Spilocaea* شکل غیرجنسی شناخته شده گونه‌های جنس *Venturia* هستند (Schubert et al. 2003). تفکیک و تمایز این سه جنس بر اساس نحوه رشد سلول‌های کنیدیوم‌زا می‌باشد که جنس *Fusicladium* دارای سلول‌های کنیدیوم‌زای سیمپودیال است (شکل A-۱)، جنس *Pollaccia* با داشتن سلول‌های کنیدیوم‌زایی با رشد محدود و یا دارای رشد متوالی و مونوبلاستیک (Monoblastic)، با تعداد نسبتاً کم حلقه از سایر جنس‌ها متمایز می‌شود. جنس *Spilocaea* نیز دارای سلول‌های کنیدی‌زایی با رشد متوالی و حلقه‌های متعدد (شکل C-۱) است (Ruszkiewicz-Michalska and Połec 2006).

اعضای تیره *Venturiaceae* سودوتسیوم‌های (Pseudothecia) کروی و یا آسکوسترومای (Ascosteroma) چندحجره‌ای تولید می‌کنند. معمولاً اطراف روزنه را خارهای قهوه‌ای رنگ مشخصی احاطه می‌کند. آسکوسپورها دو سلولی بی‌رنگ و یا به رنگ‌های سبز زیتونی تا قهوه‌ای هستند و در بسیاری از گونه‌ها دو سلول آسکوسپور هم‌اندازه نیستند (شکل ۲).

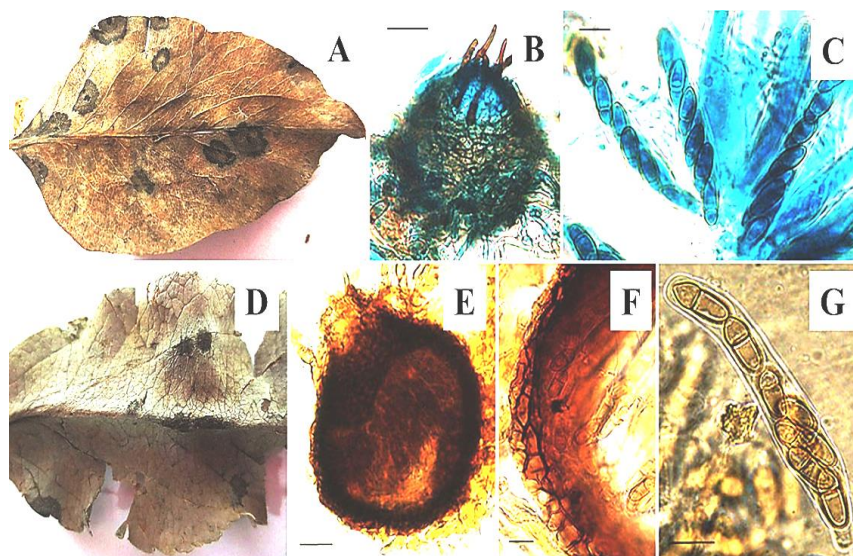
۲- اهمیت بیماری‌ها

لکه سیاه در بیشتر مناطق کشت سیب در کشور شیوع دارد. ابراهیمی و همکاران (Ebrahimi et al. 2016) با نمونه‌برداری از رقم‌های مختلف سیب (سیب وحشی، رقم‌ها مختلف سیب بومی ایران و رقم‌های تجارتي) از ۱۸ استان کشور (استان‌های آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، اردبیل، اصفهان، البرز، تهران، زنجان، خراسان



شکل ۱. A- کنیدیوفور و سلول‌های کنیدیوم‌زای سیمپودیال و B- کنیدیوم در جنس *Fusicladium*. C- کنیدیوفور و سلول‌های کنیدیوم‌زای انلیدیک و D- کنیدیوم در جنس *Spilocaea*. مقیاس = ۱۰ میکرومتر. (اصلی)

Figure 1. A- Conidiophore and sympodial conidiogenous cells, and B- conidia in *Fusicladium*, C- conidiophore and annelidic conidiogenous cells, D- conidia in *Spilocaea*. Scale bars = 10 μ m.



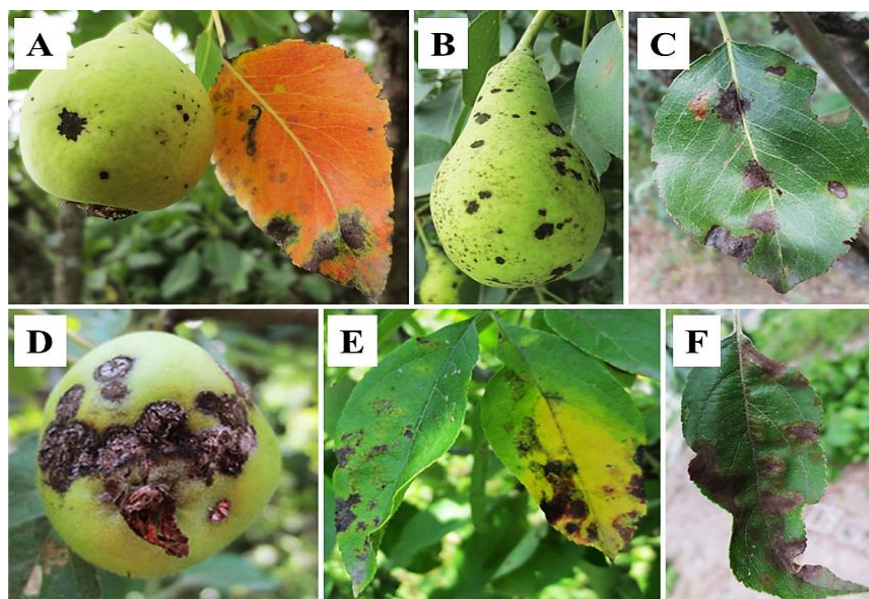
شکل ۲. A- اندام‌های باردهی در مرحله زمستان‌گذرانی *Venturia pyrina* (نمونه VP278) روی برگ‌های آلوده گلابی ریخته شده زیر درخت، B- سودوتسیوم تشکیل شده روی برگ گلابی، C- آسک‌ها و آسکوسپورهای لکه سیاه گلابی، D- مرحله زمستان‌گذرانی *Venturia inaequalis* (نمونه VI277) روی برگ‌های آلوده سیب ریخته شده زیر درخت، E- سودوتسیوم تشکیل شده روی برگ سیب، F- پریدیوم در سودوتسیوم قارچ لکه سیاه سیب، G- آسک و آسکوسپور در لکه سیاه سیب. مقیاس = ۱۰ میکرومتر. (اصلی)

Figure 2. A- Fruiting bodies in overwintering phase of *Venturia pyrina* (VP278) on pear infected leaves, B- pseudothecium formed on pear leaf, C- asci and ascospores of pear scab, D- overwinter phase of *Venturia inaequalis* (VI277) on apple infected leaves, E- pseudothecium formed on apple leaf, F- peridium of pseudothecium of apple scab, G- asci and ascospore of apple scab. Scale bars = 10 μ m.

شمالی، خراسان رضوی، قزوین، گلستان، گیلان، کردستان، کرمانشاه، لرستان، مازندران، مرکزی، همدان) که دارای شرایط مساعد رشد (خنک و مرطوب) قارچ عامل بیماری لکه سیاه سیب هستند، نشان دادند که بیماری در این مناطق به‌طور گسترده‌ای شایع است و خسارت آن روی رقم‌های حساس سیب از جمله رقم لبنانی قرمز (Red Delicious) و رقم‌های بومی مثل سیب گلاب گاهی به صد درصد محصول نیز می‌رسد. لکه سیاه گلابی که در بعضی از کشورها «نقطه سیاه گلابی» نیز نامیده می‌شود، در کشورهای عضو اتحادیه اروپا بسیار شایع است. در ایران نیز مناطق انتشار این بیماری در استان‌های حاشیه دریای خزر، آذربایجان شرقی و غربی، البرز، باغ‌های واقع در کوهپایه‌های استان تهران، قزوین و خراسان می‌باشد (Ashkan 2011, Ebrahimi et al. 2018). همچنین، خسارت بیماری در سال‌هایی که بارندگی در فصل بهار زیاد باشد قابل توجه است (Ashkan 2011).

۳- نشانه‌های بیماری‌ها

در گونه‌های *V. pyrina* و *V. inaequalis*، آسکوسپور یا کنیدیوم پس از قرار گرفتن روی میزبان، جوانه زده و از طریق منافذ طبیعی و یا به‌طور مستقیم از کوتیکول وارد میزبان می‌شوند. میسلیم در حد فاصل اپیدرم و کوتیکول توسعه می‌یابد. قبل از کنیدیایی قارچ، محل آلودگی به صورت لکه‌های سبز روشن تا زرد رنگ دیده



شکل ۳. A-C- علائم بیماری لکه سیاه روی برگ و میوه گلابی و D-F- روی سیب (اصلی).

Figure 2. A-C- Symptoms of black spot disease on leaf and fruit of pear, and D-F- on apple.

می‌شود. تشکیل کنیدیوم و کنیدیوفور در محل لکه‌ها، ظاهر مخملی قهوه‌ای تیره تا سیاه‌رنگی را ایجاد می‌کند. این قارچ بیمارگر تا قبل از تولید کنیدیوفور و کنیدیوم خسارت جدی به میزبان وارد نمی‌کند. با تولید کنیدیوم‌ها اپیدرم در اثر فشار وارده پاره شده و کنیدیوم‌ها آزاد شده و توسط باد و باران پراکنده می‌شوند (Jha et al. 2009). در آلودگی‌های شدید و زودهنگام روی میوه‌ها، بدشکلی و ترک‌هایی روی میوه ایجاد می‌شود (شکل ۳). در اثر این بیماری، روی شاخه‌ها هم تاول‌های قهوه‌ای روشن با حاشیه سفید رنگ تشکیل می‌شود و گاهی اوقات در اثر آلودگی‌های شدید پوست ناحیه آلوده شاخه کنده می‌شود (Jha et al. 2009).

۴- چرخه بیماری‌ها

گونه‌های جنس *Venturia*، قارچ‌های همی‌بیوتروف (Hemibiotroph) هستند که به صورت آسکوکارپ (سودوتسیوم) های نابالغ در میوه‌ها و عمدتاً برگ‌های آلوده ریخته شده در پای درخت (شکل ۲) و نیز در شاخه‌ها به صورت فرم غیرجنسی (میسلیوم و کنیدیوم) زمستان‌گذرانی می‌کنند. در صورت وجود رطوبت مناسب در طی فصل رشد گیاه، آسک‌ها و آسکوسپورها در داخل سودوتسیوم‌ها تشکیل می‌شوند و اوایل فصل بهار آسکوسپورهای دو سلولی بالغ آزاد و توسط باد پراکنده شده و روی میزبان قرار می‌گیرند. دمای مناسب برای تشکیل سودوتسیوم‌ها و بلوغ آسکوسپورها به ترتیب ۸-۱۲ درجه سلسیوس و ۱۶-۱۸ درجه سلسیوس می‌باشد (Turechek 2004). آسکوسپورها در فصل بهار با بارش باران طی پنج تا نه هفته رها می‌شوند (Sandskar 2003). رها شدن آسکوسپورها اغلب با نور خورشید و در طول روز اتفاق می‌افتد. اسپورها توسط باد تا حدود ۲۰۰ متر از منبع می‌توانند پراکنده شوند (Turechek 2004). این اسپورها پس از قرار گرفتن روی سطح میزبان و تماس با کوتیکول، در صورت وجود دما و رطوبت مناسب (بالای ۹۵٪) جوانه زده و اپرسوریوم بوجود می‌آید و با تولید ماده موسیلاژی، اپرسوریوم روی کوتیکول ثابت و محکم می‌شود (MacHardy 1996).

قارچ می‌تواند با سوراخ کردن کوتیکول وارد بافت میزبان شود. میسلیم قارچ بین کوتیکول و اپیدرم توسعه یافته و استرومای قارچی را بوجود می‌آورد و کنیدیوم‌زایی روی کنیدیوفورها شروع می‌شود (Park et al. 2000). اولین علائم اغلب به صورت تغییر رنگ و یا لکه‌هایی روی برگ‌های کوچک می‌باشد که پس از مدتی توسط پوشش مخملی که در واقع کنیدیوفورها و کنیدیوم‌های قارچ هستند، پوشیده می‌شوند. کنیدیوم‌ها در طول فصل بوسيله باد و باران پراکنده شده و باعث آلودگی‌های ثانویه روی برگ‌ها، میوه‌ها و شاخه‌ها و گسترش بیماری می‌شوند؛ بنابراین، فرم غیرجنسی یک مرحله مهم در چرخه زندگی این قارچ است که مرتبط با بیماری‌زایی روی میزبان می‌باشد و برای تشخیص قارچ نیز حائز اهمیت است (Schubert et al. 2003). در مناطق معتدل در طی فصل زمستان، قارچ قادر به زمستان‌گذرانی به صورت فرم غیرجنسی در محل زخم‌های روی شاخه‌ها و همچنین در جوانه‌ها می‌باشد (Boehm et al. 2003). در شرایط آب و هوایی ایران زمستان‌گذرانی این قارچ‌ها به خصوص در مناطق سردسیر اغلب به شکل جنسی رخ می‌دهد. در مطالعه ابراهیمی و همکاران (Ebrahimi et al. 2018)، نمونه‌برداری مرحله جنسی دو گونه *V. pyrin* و *V. inaequalis* از اواسط بهمن ماه تا اواسط اردیبهشت ماه در طی سالهای ۱۳۹۱ لغایت ۱۳۹۳ در دو استان آذربایجان شرقی و البرز انجام شد و مشاهده شد که بلوغ و آزادسازی آسکوسپورهای این قارچ از اواسط اردیبهشت ماه شروع می‌شود که در واقع زمان شروع بیماری می‌باشد. این بیماری به خصوص در مناطق با آب و هوای خنک و در سال‌هایی که بارندگی در فصل بهار و اوایل فصل تابستان زیاد باشد خسارت زیادی به بار می‌آورد.

۵- مدیریت بیماری‌ها

در مدیریت بیماری لکه سیاه، اختلال در چرخه بیماری به خصوص در مرحله آلودگی اولیه بسیار حائز اهمیت است (MacHardy et al. 2001). بدین منظور، روش جلوگیری از وقوع بیماری با کاهش تولید آسکوسپور در مرحله گندرویی قارچ می‌تواند در مدیریت بیماری موثر باشد. روش‌های جلوگیری از بیماری با روش‌های شیمیایی، زیستی و فیزیکی برای از بین بردن قارچ در بقایای گیاهی می‌تواند انجام شود (Belete and Boyraz 2017). از دیگر روش‌های مدیریت این بیماری، کشت رقم‌ها مقاوم و همچنین استفاده از قارچ‌کش‌ها می‌باشد.

رقم‌های مقاوم: در مدیریت بیماری لکه سیاه، توسعه رقم‌ها مقاوم، موثرترین و کارآمدترین روش محسوب می‌شود. با این حال، حضور چندین نژاد از بیمارگرها می‌تواند این روش را با مشکل مواجه کند و در حقیقت گیاه مقاوم به یک نژاد ممکن است در مقابل نژاد دیگر حساس باشد؛ بنابراین با ظهور یک نژاد جدید، مقاومت میزبان شکسته می‌شود. به عنوان مثال، رقم سیب زرد لبنانی در اوایل قرن بیستم به عنوان یک رقم مقاوم به بیماری لکه سیاه معرفی شده بود، ولی در حال حاضر جزء رقم‌های حساس به شمار می‌رود (Gessler et al. 2006). مقاومت ژنتیکی به بیماری لکه سیاه سیب (مربوط به لوکوس Vf) در یک سیب وحشی گونه *Malus floribunda* 821 برای اولین بار، یافت شد (Gessler and Pertot 2012). در حال حاضر رقم‌های با چندین ژن مقاومت غالب که بیشتر آن‌ها مرتبط با لوکوس Vf در ژنوم سیب هستند توسعه پیدا کرده‌اند و رقم‌ها متنوعی با طیف وسیعی از حساسیت تا مقاومت نسبت به این بیماری وجود دارند. به عنوان مثال، در اروپا و نیوزیلند طبق برنامه‌های پرورش سیب، بیش از ۵۰ رقم مقاوم به بیماری لکه سیاه مثل رقم *Prima*

Redfree و Liberty توسعه پیدا کرده‌اند (Bowen et al. 2011, Benaouf and Parisi 2000, Shane 2016).

روش‌های باغی: احداث باغ در شیب‌های ملایم جنوبی، تنظیم فاصله کشت درختان و هرس صحیح درختان جهت تهویه مناسب می‌تواند در کاهش و حتی پیشگیری از شیوع بیماری موثر باشد. رعایت بهداشت باغ مثل جمع‌آوری بقایا (برگ‌ها)، سوزاندن یا دفن بقایا در زیر خاک و کاربرد اوره پنج درصد روی برگ‌های روی زمین برای کاهش آلودگی به بیماری لکه سیاه موثر و ضروری می‌باشد (Giraud et al. 2011). حذف برگ‌ها و اوره‌پاشی روی آن‌ها در طی ماه‌های آذر و اردیبهشت با از بین بردن برگ‌ها و جلوگیری از تشکیل سودوتسیوم‌های قارچ، بیماری را به ترتیب تا ۸۰-۹۰٪ و ۵۰-۶۶٪ کاهش می‌دهد (Sutton et al. 2000).

مهار زیستی: طی چند پژوهش، عوامل متعارض مختلفی برای مدیریت بیماری لکه سیاه شناسایی شده‌اند. به عنوان مثال، *Microsphaeropsis ochracea* که به‌طور طبیعی روی برگ‌های مرده رشد می‌کند به‌عنوان یک متعارض طبیعی *V. inaequalis* شناخته شده است به‌طوری‌که کاربرد آن در ماه‌های شهریور و مهر باعث کاهش ۹۵-۹۹٪ تولید آسکوسپور در فصل بهار سال بعد در مقایسه با تیمار شاهد شده است (Carisse and Rolland 2004). همچنین دو قارچ *Chaetomium globosum* و *Athelia bombacina* به عنوان عامل مهارزیستی *V. inaequalis* هستند که برای کاهش آلودگی‌های ثانویه بیماری (با کاهش اندازه و تعداد لکه‌ها، میزان کنیدیوم و جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها) موثر می‌باشند (MacHardy 1996). علاوه بر این عوامل، کرم‌های خاکی از جمله عوامل مهم مهار زیستی طبیعی برای حذف برگ‌های مرده در باغ‌های سیب در طی فصل زمستان و اول بهار هستند که می‌توانند تا ۹۰٪ برگ‌های پاییزی را از بین ببرند (Holb et al. 2006). مورسان (Muresan 2017) ۵۵ جدایه باکتری و ۶۰ جدایه قارچ‌های درون‌رست قابل کشت سیب را جداسازی و شناسایی کرد. از بین آنها، جدایه *Fusarium oxysporum* FRS09 با ۸۳٪ بازدارندگی از رشد قارچ عامل بیماری، بیشترین اثر تعارضی را نشان داد. دولکلدیو و ببوشوا (Doolotkeldieva and Bobusheva 2017) پتانسیل مهار زیستی *Trichoderma viride* و *Streptomyces* sp. را علیه قارچ عامل بیماری لکه سیاه سیب در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای مورد بررسی قرار دادند. قارچ *T. viride* در طی ۳۵ روز، بیماری را در برگ‌های نهال‌ها به‌طور کامل متوقف کرد و اثر بهتری را نسبت به *Streptomyces* sp. نشان داد.

مبارزه شیمیایی: در رقم‌های تجارتي حساس سیب، مدیریت بیماری تنها با استفاده از قارچ‌کش‌ها انجام می‌شود. سمپاشی علیه این بیماری باید چندین بار انجام شود. سمپاشی در اوایل بهار برای پیشگیری از وقوع بیماری و در طی بهار و تابستان برای مهار آلودگی‌های ثانویه انجام می‌شود (Alaniz et al. 2014). کاربرد ترکیبات معدنی مثل سولفور، لایم سولفور و نمک‌های مس برای مدیریت بیماری و جلوگیری از آلودگی اولیه ضروری است (Daniels 2013). کارآیی قارچ‌کش مایکلوبوتانیل در مقایسه با قارچ‌کش‌های کاپتان، تری‌فلوکسی‌استروبین، تری‌فلوکسی‌استروبین + تبوکونازول و تری‌فلوکسی‌استروبین + فلوپیرام علیه بیماری لکه سیاه سیب در باغ‌های سیب استان‌های اردبیل، کهگیلویه و بویراحمد و آذربایجان غربی مورد بررسی قرار گرفت. در استان آذربایجان غربی به دلیل عدم وقوع بیماری در حد قابل ارزیابی، امکان ارزیابی بیماری نبود. در دو استان کهگیلویه و بویراحمد و اردبیل درصد وقوع بیماری و درصد شدت بیماری محاسبه شد. یافته‌ها نشان دادند در هر دو استان، قارچ‌کش‌های مایکلوبوتانیل در غلظت‌های ۰/۳۱۴ در هزار و مایکلوبوتانیل ۰/۲۲۸

درهزار، تری‌فلوکسی‌استروبین + فلوپیرام ۰/۴ درهزار و تری‌فلوکسی‌استروبین + تبوکونازول ۰/۲ درهزار بهترین کارایی را در کاهش شدت بیماری داشتند. بنابراین بر اساس در دسترس بودن این سمها و میزان شدت بیماری می‌توان از آنها به صورت تناوبی در نوبت‌های مختلف سم‌پاشی از مرحله نوک نقره‌ای تا تورم جوانه‌های گل بوده و سمپاشی‌های بعدی در صورت نیاز، پس از ریزش گلبرگ‌ها برای مدیریت بیماری استفاده کرد (Khabaz Jolfaei et al. 2018).

پیش‌آگاهی: مطمئن‌ترین و موثرترین روش مدیریت بیماری لکه سیاه، جلوگیری از استقرار و انتقال عامل بیماری در باغ است. با توجه به اثرات زیست‌محیطی و اقتصادی کاربرد قارچ‌کش‌ها، توصیه می‌شود با توجه به روش پیش‌آگاهی از وقوع بیماری لکه سیاه که بر اساس جدول میلز (با برآورد زمان وقوع بیماری، دوره نهفتگی بیماری از وقوع عفونت تا بروز لکه و تشکیل کنیدی و شدت آلودگی با توجه به تعداد ساعت‌های خیس بودن برگ‌ها در درجه حرارت‌های مختلف)، توالی، تکرار و مدت بارندگی‌های بهاره و شرایط اقلیمی منطقه می‌باشد، اقدام به سمپاشی شود (Singh et al. 2016). در سال‌های اخیر، با استفاده از دستگاه‌های الکترونیکی و نرم‌افزارهای مخصوص از جمله نرم‌افزار Field Climate با تعیین دوره خروج آسکوسپورها از سودوتسیوم‌ها، طول دوره خیس بودن اندام‌های درخت و دمای باغ به کمک جدول میلز، زمان وقوع عفونت مشخص و سمپاشی درختان به هنگام ضرورت شروع می‌شود (Singh 2019, Chatzidimopoulos et al. 2020). در واقع، با پیش‌آگاهی بیماری، سمپاشی در زمان دقیق انجام می‌شود و این امر از مصرف بی‌رویه سموم جلوگیری کرده و در زمان صحیح، بیماری را به‌طور موثری مهار می‌کند.

نتیجه‌گیری

بیماری لکه سیاه روی سیب و گلابی، به ترتیب با عامل *V. pyrina* و *Venturia inaequalis* مهم‌ترین بیماری قارچی به لحاظ اقتصادی محسوب می‌شود. این بیماری‌ها سالانه باعث اپیدمی‌هایی در نقاط مختلف دنیا به خصوص در مناطقی که فصل بهار و اوایل تابستان هوا خنک و مرطوب باشد، می‌شود. رطوبت و دما از عوامل مهم و تاثیرگذار در شیوع و شدت این بیماری‌ها می‌باشند. به همین دلیل، پیش‌آگاهی بیماری بر اساس رطوبت و تعداد ساعت‌های خیس بودن برگ‌ها در درجه حرارت‌های مختلف، توالی، تکرار و مدت بارندگی‌های بهاره و شرایط اقلیمی منطقه، در مدیریت بیماری مهم و موثر می‌باشد. در واقع، با پیش‌آگاهی بیماری، سمپاشی در زمان دقیق انجام می‌شود و این امر از مصرف بی‌رویه سموم جلوگیری کرده و در زمان صحیح، بیماری را مهار می‌کند. بنابراین مدیریت تلفیقی این بیماری با کاربرد تلفیقی رقم‌ها مقاوم، بهداشت باغی، پیش‌آگاهی، کاربرد مواد شیمیایی و روش‌های زیستی پیشنهاد می‌شود.

منابع

References

- Ahmadi K, Ebadzadeh H, Hatami F, Hossaeinpour R, Abdshah H (2019) Agricultural Statistics of 2018, Volume 3: Horticultural Products. Ministry of Agriculture, Deputy for Planning and Economy, Information and Communication Technology Center. Tehran, Iran. (In Persian).
- Alaniz S, Leoni C, Bentancur O, Mondino P (2014) Elimination of summer fungicide sprays for apple scab (*Venturia inaequalis*) management in Uruguay. *Scientia Horticulturae* 165:331-335.

3. Ashkan SM (2011) A Textbook of Fruit Crops Diseases in Iran. Aeeizh, Tehran, Iran, 472p. (In Persian).
4. Belete T, Boyraz N (2017) Critical review on apple scab (*Venturia inaequalis*) biology, epidemiology, economic importance, management and defense mechanisms to the causal agent. Journal of Plant Physiology and Pathology 5:2.
5. Benaouf G, Parisi L (2000) Genetics of the host-pathogen relationship between *Venturia inaequalis* races 6 and 7 and *Malus* species. Phytopathology 90:236-242.
6. Boehm EWA, Freeman S, Shabi E, Michailides TJ (2003) Microsatellite primers indicate the presence of asexual populations of *Venturia inaequalis* in coastal Israeli apple orchards. Phytoparasitica 31:236-251.
7. Bowen JK, Mesarich CH, Bus VGM, Beresford RM, Plummer KM, Templeton MD (2011) *Venturia inaequalis*: the causal agent of apple scab. Molecular Plant Pathology 12:105-122.
8. Carisse O, Rolland D (2004) Effect of timing of application of the biological control agent *Microsphaeropsis ochracea* on the production and ejection pattern of ascospores by *Venturia inaequalis*. Phytopathology 94:1305-1314.
9. Chatzidimopoulos M, Lioliopoulou F, Sotiropoulos T, Vellios E (2020) Efficient control of apple scab with targeted spray applications. Agronomy 10:217.
10. Daniels B (2013) Response of apple (*Malus domestica*) to *Venturia inaequalis*, the causal agent of apple scab: a real-time PCR and proteomics study. Ph.D. thesis. Catholic University of Leuven. Belgium, 199p.
11. Doolotkeldieva T, Bobusheva S (2017) Scab disease caused by *Venturia inaequalis* on apple trees in Kyrgyzstan and biological agents to control this disease. Advances in Microbiology 7:450-466.
12. Ebrahimi L, Fotouhifar KB, Javan Nikkhah M, Naghavi MR (2018) Study on sexual fertility of *Venturia inaequalis* and *Venturia pyrina* in vitro. Journal of plant protection, 32:307-314. (In Persian).
13. Ebrahimi L, Fotouhifar KB, Javan Nikkhah M, Naghavi MR, Baisakh N (2016) Population genetic structure of apple scab (*Venturia inaequalis* (Cooke) G. Winter) in Iran. PLoS ONE 11:e0160737.
14. Ershad D (2009) Fungi of Iran. Iranian Research Institute of Plant Protection. Tehran, Iran. 546p.
15. Gessler C, Patocchi A, Sansavini S, Tartarini S, Gianfranceschi L (2006) *Venturia inaequalis* Resistance in Apple. Critical Reviews in Plant Sciences 25:473-503.
16. Gessler C, Pertot I (2012) Vf scab resistance of *Malus*. Trees 26:95-108.
17. Giraud DD, Elkins RB, Gubler WD (2011) Apple and pear scab. Plant Pathology. University of California. Statewide Integrated Pest Management. Program Agriculture and Natural Resources.
18. Holb IJ, Heijne B, Jeder M (2006) Effects of integrated control measures on earthworms, leaf litter and *Venturia inaequalis* infection in two European apple orchards. Agriculture, Ecosystems and Environment 114:287-295.

19. Jamar L (2011) Innovative strategies for the control of apple scab (*Venturia inaequalis* [Cke.] Wint.) in organic apple production. Ph.D. thesis, University of Liege-Gembloux Agro-Bio Tech, Belgium.
20. Jha G, Thakur K, Thakur P (2009) The *Venturia* apple pathosystem: pathogenicity mechanisms and plant defense responses. Journal of Biomedicine and Biotechnology. <https://doi.org/10.1155/2009/680160>.
21. Khabaz Jolfaei H, Keshavarz K, Karbalaee Khiavi H, Ravanlou A, Ganji R, Ramezani H, Seyedi A (2018) Investigation on the efficacy of Atis® WP 40% fungicide against *Venturia inaequalis* the pathogen of apple scab disease. Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran. 15p.
22. Le Cam B, Parisi L, Arene L (2002) Evidence of two formae speciales in *Venturia inaequalis*, responsible for apple and pyracantha scab. Phytopathology 92:314-320.
23. MacHardy W, Gadoury D, Gessler C (2001) Parasitic and Biological Fitness of *Venturia inaequalis*: Relationship to Disease Management Strategies. Plant Disease 85:1036-1051.
24. MacHardy WE (1996) Apple Scab: Biology, epidemiology, and management. American Phytopathological Society Press.
25. Muresan LE (2017) Cultivable bacterial and fungal endophytes from apple tissues and their potential for biological control of *Venturia inaequalis*. M.Sc. thesis. Environmental Sciences, University of Guelph, Canada.
26. Park P, Ishii H, Adachi Y, Kanematsu S, Ieki H, Umemoto S (2000) Infection behavior of *Venturia nashicola*, the cause of scab on Asian Pears. Phytopathology 90:1209-1216.
27. Rossman AY, Crous PW, Hyde KD, ... (2015) Recommended names for pleomorphic genera in Dothideomycetes. IMA Fungus 6:507-523.
28. Ruszkiewicz-Michalska M, Połec E (2006) The genus *Fusicladium* (Hyphomycetes) in Poland. Acta Mycologica 41:285-298.
29. Sandskar B (2003) Apple scab (*Venturia inaequalis*) and pests in organic orchards. Ph.D. Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, 39p.
30. Schubert K, Ritschel A, Braun U (2003) A monograph of *Fusicladium* s. lat. (Hyphomycetes). Schlechtendalia 9:1-132.
31. Shane B (2016) Apple varieties with significant scab resistance, Michigan State University Extension.
32. Singh KP, Kumar J, Singh A, Prasad RK, Singh RP, Prasad D (2016) Maturation, ascospores discharge pattern and relevance of Mills criteria for predicting apple scab infection period in India. Plant Pathology Journal 15:108-123.
33. Singh KP (2019) Aerobiology, epidemiology and management strategies in apple scab: science and its applications. Indian Phytopathology 72:1-28.
34. Sivanesan A (1984) The bitunicate Ascomycetes and their anamorphs. Strauss and Cramer GmbH, Hirschberg, Germany. 701p.

35. Sutton DK, MacHardy WE, Lord WG (2000) Effects of shredding or treating apple leaf litter with urea on ascospore dose of *Venturia inaequalis* and disease buildup. Plant Disease 84:1319-1326.
36. Turechek WW (2004) Apple diseases and their management: Diseases of fruits and vegetables. Diagnosis and management. (1st edtn), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
37. Xu X, Roberts T, Barbara D, Harvey NG, Gao L, Sargent DJ (2008) A genetic linkage map of *Venturia inaequalis*, the causal agent of apple scab. BMC Research Notes 2:163.
38. Zhang Y, Crous PW, Schoch CL, Bahkali AH, Gao L, Hyde KD (2011) A molecular, morphological and ecological re-appraisal of *Venturiales*-a new order of *Dothideomycetes*. Fungal Diversity 51:249-277.



Review Article

Review of durable management of soil-borne plant pathogens

MOUSA NAJAFINIYA[✉] and MEHDI AZADVAR

Plant Protection Research Department, South Kerman Agricultural and Natural
Resources Research and Education Center, AREEO, Jiroft.

Received: 07.12.2019

Accepted: 04.03.2020

Najafiniya M , Azadvar M (2020) Review of durable management of soil-borne plant
pathogens. Plant Pathology Science 9(1):68-77. DOI: 10.2982/PPS.9.1.68.

Abstract

Plant diseases play a critical and limiting role in crop production and their control by using pesticides cause serious problems regarding food safety and environmental health and increase the need for other sustainable disease management techniques. Some of plant pathogens may infect the aerial parts of plants, but spent part of their life cycle in the soil and maintained their survival. In such cases, part of the life cycle of the plant pathogen in soil may be very important, even if that microorganism does not infect the roots. Mono culturing and cultivation of crops belonging to the same family increase the potential of disease incidence. Using and applying the suitable and correct cultural practices that limit damage of root diseases is necessary for sustainable management of soil-borne pathogens. Cultural operations, including the use of cover green crops, crop rotation, organic composts, certified seeds and propagative materials, amended organic material to soil, proper tillage systems, soil solarization, resistant cultivars, mycorrhizal fungi, all are reported and confirmed as management options for long time saving soil quality and good sustainable management of soil borne diseases.

Key words: Crop rotation, Disease, Soil solarization, *Phytophthora*, *Fusarium*

✉ m.najafinia@areeo.ac.ir

مقاله مروری

مروری بر روشهای مدیریت پایدار بیمارگرهای گیاهی خاک‌برد

موسی نجفی‌نیا ✉ و مهدی آزادوار

بخش پژوهش‌ها گیاه‌پزشکی، مرکز پژوهش‌ها و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی جنوب استان کرمان، سازمان پژوهش‌ها، آموزش و ترویج کشاورزی، جیرفت، ایران

پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۱۴

دریافت: ۱۳۹۸/۰۹/۱۶

نجفی‌نیا م، آزادوار م (۱۳۹۸) مروری بر روشهای مدیریت پایدار بیمارگرهای گیاهی خاک‌برد. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۹(۱): ۶۸-۷۷. DOI: 10.2982/PPS.9.1.68.

چکیده

بیماری‌های گیاهی نقش محدودکننده مهمی در تولید محصولات کشاورزی دارند و مهار آنها با استفاده از آفت‌کش‌ها، نگرانی‌های جدی در مورد ایمنی مواد غذایی و سلامت محیط زیست به وجود می‌آورد و ضرورت استفاده از سایر روش‌های مدیریت پایدار بیماری‌ها را دوچندان می‌سازد. بسیاری از بیمارگرهای گیاهی ممکن است آلودگی را روی قسمت‌های هوایی گیاهان ایجاد کنند اما بخشی از چرخه زندگی خود را در خاک طی نموده و بقای خود را حفظ نمایند. در این‌گونه موارد، بخشی از چرخه زندگی بیمارگر گیاهی که در خاک است ممکن است بسیار مهم باشد، حتی اگر ریشه‌ها را آلوده نکند. تک کشت‌های پیاپی و یا کاشت گونه‌های گیاهی مشابه با هم در زمین زراعی ثابت، احتمال شیوع بیماری را افزایش می‌دهد. عملیات مختلف زراعی از جمله استفاده از گیاهان پوششی، تناوب زراعی، کاربرد کمپوست، تقویت مواد آلی خاک، استفاده از بذر و مواد تکثیری سالم و گواهی شده، کشت رقم‌های مقاوم، استفاده از قارچ‌های میکوریز، خاک‌ورزی مناسب و آفتاب‌دهی خاک به عنوان گزینه‌های مناسب مدیریت پایدار بیماری‌های ناشی از بیمارگرهای خاک‌برد و حفظ کیفیت و سلامت خاک محسوب می‌شوند.

واژگان کلیدی: بیماری، تناوب زراعی، آفتاب‌دهی خاک، *Fusarium*, *Phytophthora*

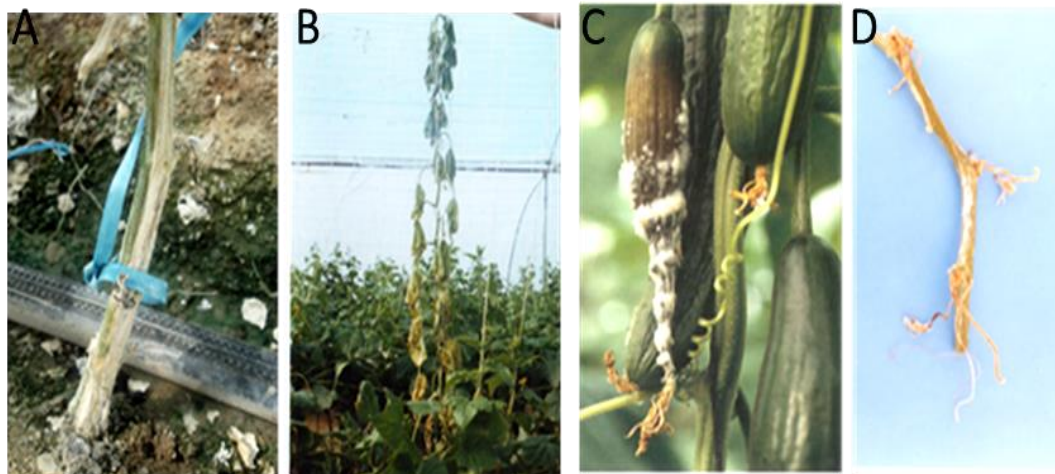
مقدمه

شیوع بیماری اغلب به دنبال افزایش جمعیت بیمارگر یا تغییر در نوع گیاه کشت‌شده که سبب افزایش حساسیت به بیمارگر می‌شود، اتفاق می‌افتد. شناسایی بیماری‌های گیاهی با استفاده از نشانه ظاهری، اغلب دشوار است. بیمارگرها در مراحل و سنین رشدی مختلف گیاهان ممکن است علائم متفاوتی ایجاد کنند. میزان جمعیت بیمارگر در خاک و شرایط محیطی نیز می‌توانند بر شدت نشانه یک بیماری تأثیرگذار باشند. علاوه بر این، تنوع نشانه بیماری‌های گیاهی ممکن است ناشی از آلودگی هم‌زمان چند میکروارگانیسم در یک گیاه باشد (Lamichhane and Venturi 2015). در شرایط آلودگی هم‌زمان یک گیاه به چند میکروارگانیسم، تعاملات بین ارگانیسم‌ها می‌توانند نشانه‌ای را ایجاد کنند که متفاوت از آلودگی ناشی از همان ریزجاندارانها به تنهایی باشد (Fitt et al. 2006). به عنوان مثال در مورد بیماری زوال مرکبات در جنوب ایران

✉ m.najafinia@areeo.ac.ir

که ناشی از آلودگی هم‌زمان درختان مرکبات به فیتوپلاسما، میوه سبز مرکبات، نماتد ریشه مرکبات، *Fusarium solani*، *Phytophthora nicotiana* و دمای بالا در طول تابستان است (Azadvar et al. 2019). نشانه، متفاوت از آلودگی به هر بیمارگر به تنهایی است و به صورت رنگ‌پریدگی عمومی درختان آلوده، توقف جوانه‌زنی جدید در فصل جوانه‌زنی مرکبات، ریز شدن میوه‌ها، پوسیدگی شدید ریشه‌ها و نهایتاً زوال کامل درختان آلوده دیده می‌شود. بیمارگرهای مختلف گاهی ممکن است نشانه مشابهی روی یک میزبان ایجاد نمایند (Del Ponte et al. 2014)، لذا همیشه شناسایی عامل یک بیماری از روی نشانه بیماری آسان نیست. قارچ‌ها، شبه‌قارچ‌ها، باکتری‌ها، برخی ویروس‌ها و نماتدهای انگل گیاهی می‌توانند ایجاد بیماری‌های خاک‌برد نمایند. به عنوان مثال بیمارگرهای قارچی مهم خاک‌برد در مزرعه و گلخانه خیار شامل گونه‌های *Fusarium* (شکل ۱ A, B)، *Verticillium*، *Rhizoctonia* و *Sclerotinia* هستند (شکل ۱ C, D).

از دیدگاه مدیریت محصول، بیماری‌های خاک‌برد، مسائل خاص خود را دارند. آن‌ها از دید کشاورزان مخفی بوده و تشخیص آن‌ها دشوار است. به‌طور کلی، تشخیص و کنترل بیماری‌های خاک‌برد در مقایسه با بیماری‌های اندام هوایی برای کشاورزان و حتی کارشناسان دشوارتر است. تراکم جمعیت ریزجاندارانهای خاک می‌تواند به‌طور گسترده‌ای در فاصله چند متر در یک زمین متفاوت باشد، زیرا توزیع و پراکنش آن‌ها به شدت تحت تأثیر ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک قرار می‌گیرد (Moore and Lawrence 2013). پژوهش‌ها نشان داده که پراکنش جمعیت نماتد ریشه مرکبات در یک باغ و درختان آلوده به زوال مرکبات در جنوب کرمان متغیر است (Najafiniya and Azadvar 2016). علاوه بر این، روش‌های استخراج، شناسایی و تخمین میزان جمعیت و برآورد خسارت در بیمارگرهای خاک‌برد متفاوت است و این تنوع در روش‌ها و فن‌های به کار برده شده، ممکن است به‌سختی بتوان نتایج پژوهش‌ها گروه‌های مختلف را با هم مقایسه کرد.



شکل ۱. نشانه بیماری پوسیدگی فوزاریومی ریشه و ساقه خیار (A) و پژمردگی خیار (B)، پوسیدگی میوه و ساقه خیار ناشی از قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* (C و D) (اصلی).

Figure 1. Fusarium root and stem rot (A) and wilt of cucumber (B), Cucumber fruit and stem rot (C, D) caused by *Sclerotinia sclerotiorum* (Original).

۱-راهنماهای اصولی مدیریت بیماری‌های خاکبرد

۱-۱-تشخیص و ارزیابی وقوع و شدت بیماری

با توجه به این که بیمارگرهای خاکبرد برای مدت طولانی در خاک دوام خود را حفظ می‌نمایند، جهت مدیریت موفق و پایدار، بهتر است سابقه شیوع برای هر بیماری در هر مزرعه تهیه و ثبت شود. ارزیابی بهداشت و سلامت هر محصول شامل درصد وقوع بیماری، شدت بیماری و میزان خسارت محصول، همگی از عوامل کلیدی بوده و بایستی در هنگام طراحی و انتخاب راهنما مدیریت بیماری در نظر گرفته شوند (Peter et al. 1997). برای مثال شبه‌قارچ *Phytophthora drechsleri* باعث ایجاد بیماری‌های مهمی در سبزی‌ها در ایران و سایر کشورها می‌شود (Hatami et al. 2013, Mostowfizadeh-Ghalemfarsa and Banihashemi 2015, Najafiniya 2014). مدیریت بیماری‌های ناشی از گونه‌های *Phytophthora* اغلب از طریق مدیریت تلفیقی و بر اساس اصولی مانند جلوگیری از آلودگی با رعایت بهداشت مزرعه یا گلخانه، زهکشی و عدم استفاده از آبیاری غرقابی، بهبود سلامت خاک، استفاده از ژرم‌پلاسماهای مقاوم در برابر بیماری، مبارزه زیستی و شیمیایی است (Najafiniya and Shabai 2019).

۱-۲-انتخاب و نگهداری بذر و مواد تکثیری گیاهی

انتخاب و کاشت مواد تکثیری و بذره‌های گیاهی استاندارد، سالم و گواهی‌شده، عاری از هرگونه بیمارگر و با کیفیت بالا، اولین گام مهم در مدیریت بیماری‌ها است. این امر به‌خصوص برای گیاهانی که با اندام‌های رویشی نظیر غده، پیاز و قلمه تکثیر می‌شوند بسیار مهم و حیاتی است. شیوه‌های مدیریتی خوب و نگهداری صحیح بذر قبل از کاشت برای کاهش بیماری‌های ناشی از بیمارگرهای خاکبرد ضروری است. ضدعفونی بذرها، غده‌ها و سایر مواد تکثیری در این‌گونه بیماری‌ها بسیار مهم و حیاتی است و برای کنترل موفق و پایدار باید رعایت شود (Wang and Lazarovits 2005).

۱-۳-انتخاب رقم‌های مناسب و مقاوم

نکته مهم این است که در یک برنامه راهنما مدیریت بیماری‌های گیاهی، رقم‌های مقاوم باید در تلفیق با سایر شیوه‌های مدیریت استفاده شود (Najafiniya et al. 2018). در سال‌های اخیر، پیوند برخی از گیاهان خانواده سولاناسه (گوجه‌فرنگی، بادمجان و فلفل) و گیاهان خانواده کدوئیان (خربزه، خیار و هندوانه) روی پایه‌های مقاوم به برخی عوامل بیمارگر خاکبرد برای کنترل بیماری‌ها استفاده شده است (Bruton 2005).

۱-۴-افزایش و تقویت مواد آلی خاک

استفاده از گیاهان پوششی به‌عنوان کود سبز آلی، برخی بذرها آرد شده، مواد و بقایای خشک گیاهی، کمپوست با کیفیت خوب، ضایعات مواد آلی، همگی می‌توانند به کاهش بیماری‌های ناشی از بیمارگرهای خاکبرد مانند گونه‌های *Fusarium* (Klein et al. 2011)، *Pythium* (Mc Kellar and Nelson 2003) نماتدهای مولد غده ریشه و نماتدهای مولد زخم ریشه در سبزی‌ها (Abawi and Widmer 2000) کمک نمایند. اضافه کردن مواد آلی، ساختار خاک و توانایی آن در نگهداری آب و مواد غذایی را بهبود می‌بخشد و همچنین باعث افزایش جمعیت جانداران متعارض در خاک می‌شود. پژوهش‌ها نشان داده است اضافه کردن مواد آلی در طی دوران آیش زمین، ضمن بهبود حاصلخیزی خاک و تقویت رشد رویشی گیاهان در فصل بعد، باعث مهار بیماری‌های ناشی از شبه‌قارچ‌های *Pythium* و *Phytophthora* می‌شود (Baysal

et al. 2008). استفاده از گیاه پوششی چاودار دانه‌ای به‌عنوان کود سبز به صورت مخلوط با خاک، باعث کاهش بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا و افزایش عملکرد شده است (Abawi and Widmer 2000). پژوهش‌ها نشان داده است گیاه پوششی سودان‌گراس به عنوان کود سبز باعث کاهش چشمگیر جمعیت نماتد *M. hapla* شده است (Viaene and Abawi 1998). اولین گام در تعیین مؤثر بودن گیاه پوششی یا کود سبز در کاهش جمعیت نماتد مولد غده این است که گیاه مورد نظر نباید میزبان نماتد باشد یا این که میزبان ضعیفی باشد و قبل از میزبان اصلی، در مزرعه کاشت شود تا سبب کاهش جمعیت نماتد گردد.

۱-۵- کشت مستقیم و نشایی

محصولهای گلخانه‌ای می‌توانند به‌صورت نشایی و یا کاشت مستقیم بذر تولید شوند. اگر مراحل تولید نشا در شرایط مناسب و عاری از آلودگی انجام شود، می‌توان از بیماری‌های مرگ گیاهچه و پوسیدگی‌های ریشه فرار کرد (Juroszek and Von Tiedemann 2011). در طول زمان تولید نشا، از آبیاری زیاد و دمای بالا باید خودداری نمود. در کشت‌های مستقیم بذر، آماده‌سازی بستر مناسب و با زهکشی کافی می‌تواند تا حدود زیادی بیماری‌های ناشی از عوامل خاک‌برد را کاهش دهد. در خاک‌های سنگین‌تر، کاشت کم‌عمق توصیه می‌شود تا مشکلات ناشی از بیماری مرگ گیاهچه را کاهش دهد. بستر کاشت پشته‌ای برآمده برای کشت سبزی‌های گلخانه‌ای به ویژه خیار و کاهش بیماری مرگ گیاهچه در خاک‌های نسبتاً سنگین بسیار مناسب است. رعایت فاصله کاشت مناسب ضمن کمک به گردش جریان هوا و تهویه در اطراف بوته‌ها، رطوبت نسبی اطراف بوته‌ها و رطوبت سطح برگ را کاهش داده و شرایط را برای بیمارگرهای اندام‌های هوایی نامساعد می‌کند. استفاده از مالچ‌های آلی در کف گلخانه، تماس مستقیم بخش‌های هوایی گیاه با خاک را کاهش داده و باعث کاهش بیماری‌ها می‌شود (Lamichhane et al. 2017).

۱-۶- رعایت بهداشت گلخانه و مزرعه

رعایت مسائل بهداشتی در سیستم‌های تولید گلخانه‌ای بسیار مهم و حیاتی است. بسیاری از بیمارگرها، بقای خود را در بقایای گیاهان آلوده حفظ نموده و باعث بروز و پخش بیماری‌های گیاهی می‌شوند، بنابراین هنگام عملیات خاک‌ورزی، حذف بقایای گیاهی آلوده و جمع‌آوری صحیح در کاهش منبع آلودگی و شدت بیماری‌های خاک‌برد بسیار مؤثر است (شکل ۲). در بیماری کپک سفید اسکروتینیایی سبزی‌ها به محض



شکل ۲. بهداشت ضعیف گلخانه (a) و رها سازی بقایای آلوده در نزدیک گلخانه باعث انتشار و بقا منبع آلودگی بیماری سفیدک کرکی خیار (b) می‌شود (اصلی).

Figure 2. Poor sanitation of greenhouse (a) and leaving of infected leaves near greenhouse, leads to distribution and survival of infection source of cucumber Downy mildew (b) (original).

مشاهده بوته آلوده بایستی ضمن حذف منبع آلودگی، بوته آلوده جمع‌آوری و از مزرعه یا گلخانه خارج شود تا منبع آلودگی کاهش یابد. حذف علف‌های هرز در مدیریت بیماری‌ها بسیار مؤثر است چون برخی از علف‌های هرز میزبان و حامل برخی از بیمارگرها هستند (Thomas and William 2001).

۷-۱- آفتاب‌دهی خاک

آفتاب‌دهی یک روش ضدعفونی خاک است که در مدیریت بیمارگرهای خاکری بسیار مؤثر است (Saremi et al. 2010). در این روش، با استفاده از پوشش پلاستیکی شفاف و نازک، ضمن به دام انداختن گرمای ناشی از تابش آفتاب به زمین، به کمک رطوبت موجود در خاک، گرما را به سطوح پائین تر خاک منتقل و سبب کشته شدن یا نابودی عوامل بیمارگر، برخی آفات و بذر علف‌های هرز موجود در خاک می‌شود. آفتاب‌دهی خاک، جمعیت بسیاری از بیمارگرهای گیاهی از جمله *Verticillium dahlia*، برخی از گونه‌های *Fusarium*، *Sclerotinia* spp.، *Pythium*، *Phytophthora*، نماتدها و علف‌های هرز را کاهش می‌دهد (Stevens et al. 2003). محدودیت‌های عمده برای آفتاب‌دهی خاک هزینه نسبتاً زیاد و وابستگی شدید به شرایط اقلیمی است، که در مناطق گرم کارایی بیشتری دارد. مخلوط نمودن کودهای آلی پوسیده مانند کودهای گاوی و کود مرغ با خاک قبل از آفتاب‌دهی ضمن بالا بردن دمای خاک، کارایی آفتاب‌دهی خاک را افزایش می‌دهد (Saloum and Almahasneh 2015).

۸-۱- ضدعفونی غیرهوازی خاک

ضدعفونی غیرهوازی خاک با اضافه نمودن مواد آلی قابل تجزیه در زمان کوتاه (مانند سبوس گندم، ملاس، کاه یا سبوس برنج) به خاک مرطوب و بلافاصله پوشش سطح زمین با مالچ پلاستیکی و ایجاد شرایط غیرهوازی انجام می‌شود (Diab et al. 2003). مزیت ضدعفونی خاک این روش نسبت به آفتاب‌دهی خاک، این است که این روش نیاز چندانی به گرمای ناشی از تابش خورشید ندارد. افزایش جمعیت ریزجانداران مفید خاک و تولید ترکیبات فرار کشنده از مواد آلی از سازوکارهای این روش است. بنابراین می‌توان آن را در شرایط و مناطق با طول دوره تابش آفتاب کوتاه نیز به راحتی به کار برد (Strauss and Kluepfer 2015).

۹-۱- تاثیر تناوب زراعی و کشت مخلوط در مدیریت بیماری‌های خاک‌برد

تناوب زراعی پایه و اساس مدیریت بیماری‌ها و به ویژه در کشاورزی پایدار است. بسیاری از بیماری‌ها زمانی که یک محصول چند سال متوالی در یک زمین ثابت (تک کشت‌های پیایی) کشت می‌شود، به شدت افزایش یافته و ایجاد خسارت می‌کنند. برای مؤثر بودن تناوب زراعی، انتخاب نوع گیاه در تناوب باید با دقت صورت پذیرد و ترجیحاً گیاهانی انتخاب گردند که از تیره متفاوت و غیر میزبان باشد. با توجه به این که قدرت و زمان بقای بیمارگرها در خاک متفاوت است، طول دوره تناوب باید با شناخت کافی از چرخه زندگی و زیست‌شناسی عامل هر بیماری انتخاب شود. تناوب با گیاهان غیرحساس و غیرمیزبان، جمعیت بیمارگر را کاهش می‌دهند (Mohler and Johnson 2009). گستردگی میزبان در برخی بیماری‌ها، انتخاب گیاهان برای تناوب زراعی را گاهی مشکل می‌نماید. به عنوان مثال انتخاب گیاه برای تناوب جهت مدیریت گونه‌های *Sclerotinia* در گیاهان تیره کلم بسیار دشوار است زیرا اغلب گیاهان دولپه میزبان این بیمارگر هستند و آن می‌تواند برای مدت طولانی دوام خود را روی میزبان حفظ نماید. فلفل نباید در تناوب با کدوپیان کاشته شوند زیرا هر دو میزبان *Phytophthora* spp. عامل مرگ گیاهچه هستند (Mohler and Johnson 2009).

۱-۱۰- نقش قارچ‌های میکوریز در مدیریت بیماری‌های خاک‌برد

قارچ‌های میکوریز مفیدترین ریزجانداران ساکن ریشه هستند و توانایی همزیستی با حدود ۸۰٪ گونه‌های گیاهی را دارند (Sadraei 2012). قارچ‌های میکوریز باعث جذب و انتقال مواد غذایی (به‌ویژه فسفر) به گیاه میزبان می‌شوند و کربوهیدرات‌های مورد نیاز را از گیاه دریافت می‌کنند. قارچ‌های میکوریز همچنین می‌توانند تحمل به خشکسالی و مقاومت به بیمارگرهای گیاهی را افزایش و سمیت ناشی از فلزات سنگین را در گیاهان میزبان کاهش دهند (Salajegheh et al. 2015, Sadraei 2012). اثر قارچ‌های میکوریز در مدیریت بیماری پرمردگی فوزاریومی و بهبود وضعیت رویشی خیار گلخانه‌ای گزارش شده است (Fasihi et al. 2014, Hu et al. 2010). وجود قارچ‌های میکوریز در ناحیه ریزوسفر ریشه گیاهان میزبان، جمعیت باکتری‌های مفید این ناحیه را افزایش می‌دهد. جنس‌های متعددی از این قارچ‌ها از جمله *Glomus*، *Entrophospora*، *Paraglomus* و *Scutellospora* از ایران گزارش شده است (Sadraei 2002, Sadraei 2006). رعایت تناوب زراعی مناسب، کشت‌های مخلوط و استفاده از گیاهان پوششی به عنوان کود سبز، همگی باعث حفظ جمعیت این قارچ‌های مفید در خاک می‌شود و به مدیریت پایدار بیماری‌های خاک‌برد کمک می‌نماید (Chandanie et al. 2009).

۱-۱۱- نقش اسیدیته و مواد غذایی خاک در مدیریت بیماری‌های خاک‌برد

اسیدیته یا pH خاک، میزان کلسیم، نوع منبع ازت و در دسترس بودن مواد غذایی همگی می‌توانند نقش بسیار مهم و کلیدی در مدیریت بیماری‌ها ایفا کنند (Dordas 2008). تغذیه مناسب گیاهان میزبان، باعث افزایش مقاومت و تحمل گیاهان به بیماری‌ها می‌شود و کمبود ریزمغذی‌ها در گیاهان، توانایی دفاعی گیاه را در برابر بیماری‌های خاک‌زاد کاهش می‌دهد (Dordas 2008). یکی از مهم‌ترین نمونه‌های شناخته‌شده تأثیر شرایط خاک بر مدیریت بیماری را می‌توان اثر pH خاک بر بیماری جرب سیب‌زمینی ذکر نمود. بیماری جرب سیب‌زمینی در خاک‌هایی با سطوح pH بالاتر از ۵/۲ بسیار شدید است. منابع گوگردی و کودهای آمونیومی منبع ازت، خاک را اسیدی می‌کنند و در نتیجه درصد وقوع و شدت بیماری جرب سیب‌زمینی را کاهش می‌دهند (Dordas 2008).

۱-۱۲- تأثیر کمپوست در مدیریت بیماری‌های خاک‌برد

افزودن کمپوست به خاک باعث افزایش ماده آلی خاک می‌شود. تفاوت عمده بین کاربرد کمپوست جهت اصلاح مواد آلی خاک با سایر روش‌ها این است که ماده آلی در کمپوست کاملاً پوسیده و به اصطلاح هضم شده است در حالی که در سایر روش‌ها نیاز به تجزیه مواد آلی در خاک وجود دارد که به هر دو روش تجزیه هوازی و غیرهوازی در خاک اتفاق می‌افتد. این تفاوت‌ها (تجزیه هوازی یا غیرهوازی مواد آلی) تأثیر زیادی بر تأمین و مدیریت مواد آلی خاک و همچنین سلامت گیاهان و مدیریت بیماری‌ها دارد. دلیل این امر وجود باقیمانده برخی مواد شیمیایی ناشی از تجزیه بی‌هوازی در برخی کمپوست‌ها است که به شدت کیفیت کمپوست را کاهش می‌دهند. باقیمانده سولفیدها یک مثال بارز در خصوص باقیمانده مواد شیمیایی در کمپوست‌ها است (Diab et al. 2003).

نتیجه‌گیری

عملیات مختلف زراعی از جمله استفاده از گیاهان پوششی، تناوب زراعی، کاربرد کمپوست، روش‌ها و

سیستم‌های خاک‌ورزی مناسب، آفتاب‌دهی خاک، استفاده و تقویت قارچ‌های میکوریز، تغذیه مناسب، استفاده از رقم‌های مقاوم و مواد تکثیری سالم و گواهی شده به عنوان گزینه‌های مناسب مدیریت پایدار بیماری‌های ناشی از عوامل بیمارگر خاک‌برد و حفظ کیفیت و سلامت خاک محسوب می‌شوند.

References

منابع

1. Abawi GS , Widmer TL (2000) Impact of soil health management practices on soil borne pathogens, nematodes and root diseases of vegetable crops. *Applied Soil Ecology* 15:37–47.
2. Azadvar M, Alizadeh H, Safarnejad MR, Najafinia M , Bianco PA (2019) Etiology of quick decline disease of Citrus on Bakraee (*Citrus* sp.) rootstock in Southern Kerman. *Iranian Journal of Plant Protection Science* 50:87-97. (In Persian with English Abstract).
3. Baysal F, Benitez MS, Kleinhenz MD, Miller SA , McSpadden GB (2008) Field management effects on damping-off and early season vigor of crops in a transitional organic cropping system. *Phytopathology* 98:562–570.
4. Bruton B (2005) Grafting watermelon onto squash or gourd rootstock makes firmer, healthier fruit. *Agricultural Research* 53:8–10.
5. Chandanie WA, Kubote M , Hyakumechi M (2009) Interactions between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* and plant growth promoting fungi and their significance for enhancing plant growth and suppressing damping-off of cucumber(*Cucumis sativus*). *Applied Soil Ecology* 41:336-341.
6. Del Ponte EM, Spolti P, Ward TJ, Gomes LB, Nicolli CP , Kuhnem PR (2014) Regional and field-specific factors affect the composition of *Fusarium* head blight pathogens in subtropical no-till wheat agro ecosystem of Brazil. *Phytopathology* 105:246–254.
7. Diab H, Hu S , Benson DM (2003) Suppression of *Rhizoctonia solani* on impatiens by enhanced microbial activity in composted swine waste amended potting mixes. *Phytopathology* 93:1115–1123.
8. Dordas C (2008) Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture. a review. *Agronomy for Sustainable Development* 28:33–46.
9. Fasihi F, Shamshiri MH, Karimi HR , Roosta HR (2014) Effect of arbuscular mycorrhiza (*Glomus mosseae*) on growth of greenhouse cucumber (*Cucumis sativus* cv. Nahid) under different levels of sodium bicarbonate in irrigation water. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture* 5:53-62.
10. Fitt BDL, Huang YJ, Bosch FVD , West JS (2006) Coexistence of related pathogen species on arable crops in space and time. *Annual Review of Phytopathology* 44:163-182.
11. Hatami N, Aminaee MM, Zohdi H , Tanideh T (2013) Damping-off disease in greenhouse cucumber in Iran. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 46:796-802.

12. Hu JL, Ling, XG, Wang JH, Shen WS, Wu S, Peng SP , Mao TT (2010) arbuscular mycorrhizal fungal inoculation enhanced suppression of cucumber Fusarium wilt in greenhouse soils. *Pedosphere* 20:586-593.
13. Juroszek P , Von Tiedemann A (2011) Potential strategies and future requirements for plant disease management under a changing climate. *Plant Pathology* 60:100-112.
14. Klein E, Katan J , Gamliel A (2011) Soil suppressiveness to Fusarium disease following organic amendments and solarization. *Plant Disease* 95:1116–1123.
15. Lamichhane JR , Venturi V (2015) Synergisms between microbial pathogens in plant disease complexes: a growing trend. *Frontiers in Plant Science* 6:385-358.
16. Lamichhane JR, Carolyne D, André AS, Robin MH, Sarthou JP, Vincent C, Messéan A , Aubertot JN (2017) Integrated management of damping-off diseases, a review. *Agronomy for Sustainable Development* 37:10-10.
17. McKellar ME , Nelson EB (2003) Compost induced suppression of *Pythium* damping-off is mediated by fatty-acid metabolizing seed-colonizing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 69:452–460.
18. Mohler CL , Johnson SE (2009) Crop rotations on organic farms: A Planning Manual. Ithaca, NY: Natural Resource, Agriculture, and Engineering Service (NRAES) Cooperative Extension. 156 p.
19. Moore SR , Lawrence KS (2013) The Effect of Soil Texture and Irrigation on *Rotylenchulus reniformis* and Cotton. *Journal of Nematology* 45:99-105.
20. Mostowfizadeh-Ghalamfarsa R , Banihashemi Z (2015) A revision of Iranian *Phytophthora drechsleri* isolates from Cucurbits based on multiple gene genealogy analysis. *Journal of Agricultural Sciences and Technology* 17:1347-1363.
21. Najafiniya M , Azadvar M (2016) Citrus sudden decline disease in Iran. *Indian Phytopathology* 69:41-43.
22. Najafiniya M , Shabai I (2019) Fusarium Stem and root rot disease of cucumber and its control management. *Extension Journal of Greenhouse Vegetables* 2:63-72. (In Persian with English Abstract).
23. Najafiniya M (2014) Distribution map of *Phytophthora drechsleri* mating types isolated from watermelon in south part of Kerman. 10th International Mycological Congress, August, 3-8, 2014, Bangkok, Thailand.
24. Najafiniya M (2018) Grey mold rot of greenhouse cucumber. *Greenhouse Vegetable* 1:1-8.
25. Najafiniya M, Shahabi I , Rezaee S (2018) Study isolates of Fusarium stem and root rot disease of greenhouse cucumber using pathogenicity tests, vegetative compatibility groups and molecular marker. *Journal of Plant Protection* 32:49-57. (In Persian with English Abstract).
26. Peter HT, Bever D, Mihail JD , Helen MA (1997) The population dynamics of annual plants and soil-borne fungal pathogens. *Journal of Ecology* 85:313-328.
27. Sadravi M (2002) Five Glomus species of arbuscular mycorrhizal fungi from Iran. *Journal of Agricultural Science and Natural Resources* 9:15-30.

28. Sadravi M (2006) Arbuscular mycorrhizal fungi of wheat fields in Golestan Province. *Rostaniha* 7:129-140.
29. Sadravi M (2012) Arbuscular mycorrhizal fungi in plant disease management. *Plant Pathology Science* 1:1-13. (In Persian with English Abstract).
30. Salajegheh Tazerji F, Sarcheshmepour M , Mohammadi H (2015) Effect of mycorrhizal fungus *Glomus* sp. on the plant growth and root disease of Pistachio seedling caused by *Fusarium solani* under greenhouse conditions. *Journal of Soil Biology* 2:123-136.
31. Saloum A , Almahasneh H (2015) Effect of soil solarization and organic fertilization on yield of maize (*Zea mays* L.) genotypes and soil chemical properties. *Asian Journal of Agricultural Research* 9:173-179.
32. Saremi H, Amiri ME , Mirabolfathi M (2010) Application of soil solarization for controlling Soilborne fungal pathogens in newly established Pistachio and Olive orchards. *International Journal of Fruit Science* 10:143-156.
33. Stevens C, Khan, VA, Rodriguez-Kabana R, Ploper LD, Backman PA, Collins DJ, Brown JE, Wilson MA , Igwegbe ECK (2003) Integration of soil solarization with chemical, biological and cultural control for the management of soilborne diseases of vegetables. *Plant and Soil* 253:493-506.
34. Strauss SL , Kluepfel DA (2015) Anaerobic soil disinfestation: A chemical-independent approach to pre-plant control of plant pathogens. *Journal of Integrative Agriculture* 14:2309-2318.
35. Thomas JJ , William RJ (2001) Management of the greenhouse microclimate in relation to disease control: a review. *Agronomie* 21:351-366.
36. Viaene NM , Abawi GS (1998) Management of *Meloidogyne hapla* on lettuce in organic soil with sudangrass as a cover crop. *Plant Disease* 82:945-952.
37. Wang A , Lazarovits G (2005) Role of seed tubers in the spread of plant pathogenic *Streptomyces* and initiating potato common scab disease. *American Journal of Potato Research* 82:221-230.

Extensional Article

Role of betasatellites in interaction of viruses with plants

NADIA MOSHARAF¹, SAEID TABEIN^{1✉},
SEYED ALI AKBAR BEHJATNIA², ATENA SAFI¹

1- Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

2- Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 15.11.2019

Accepted: 05.03.2020

Mosharaf N, Tabein S, Behjatnia SAA, Safi A (2019) Role of betasatellites in interaction of viruses with plants. Plant Pathology Science 9(1):78-90. DOI: 10.2982/PPS.9.1.78.

Abstract

Betasatellites, as begomovirus-dependent small circular single-stranded DNAs, are multifunctional agents that trigger disease symptoms, suppress gene silencing pathways and also interact with various cellular pathways and factors. These subviral elements have a conserved genome organization that encodes only a functional open reading frame on the complementary sense strand β C1. The encoded beta satellite protein affects only the helper begomovirus cycle factor. The small size with a strong promoter sequence and the ability to replace β C1 with foreign genes made beta satellites suspected tools for the investigation of functional genes. As we expand our knowledge of begomovirus / beta satellite complexes and their interactions with host plants, we develop management approaches for the expansion of begomoviral destructive diseases.

Keywords: Begomoviruses, Betasatellite, Geminivirus, Gene study

✉Tabein.saeid@gmail.com

مقاله ترویجی

نقش بتاستلایت‌ها در برهمکنش ویروس‌ها با گیاهان

نادیا مشرف^۱، سعید تابعین^۱ ✉، سید علی اکبر بهجت‌نیا^۲، آتنا صافی^۱

۱- دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

۲- دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۱۵

دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۲۴

مشرف ن، تابعین س، بهجت‌نیا س ا، صافی ا (۱۳۹۸) نقش بتاستلایت‌ها در برهمکنش ویروس‌ها با گیاهان.

دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۹(۱): ۷۸-۹۰. DOI: 10.2982/PPS.9.1.78.

چکیده

بتاستلایت‌ها به عنوان دی‌ان‌ای‌های کوچک حلقوی وابسته به بگوموویروس‌ها، عواملی چندکاره هستند که علاوه بر القای علائم بیماری و سرکوب مسیرهای خاموشی آر‌ان‌ای، با طیف وسیعی از عوامل و مسیرهای سلولی برهمکنش می‌دهند. بتاستلایت‌ها از سازمان ژنومی محافظت‌شده‌ای برخوردارند و یک چارچوب خوانش فعال $\beta C1$ روی رشته مکمل ژنوم خود دارند. با وجود ناحیه حفاظت‌شده و ناحیه غنی از آدنین در ژنوم بتاستلایت‌ها، تنها پروتیین کدشده توسط بتاستلایت است که می‌تواند بر چرخه بگوموویروس کمکی خود اثرگذار باشد. اندازه کوچک، داشتن توالی پیش‌بر قوی و امکان جایگزین کردن توالی ژن‌های خارجی با توالی ژن رمزگذاری‌کننده $\beta C1$ ، باعث شده است که بتاستلایت‌ها به عنوان ابزاری مناسب در مطالعات تعیین عملکرد ژن‌ها، بیان ژن‌ها و تاریخ‌سازی مورد استفاده قرار بگیرند. افزایش دانش ما در مورد چگونگی برهمکنش‌های چندگانه بتاستلایت/بگوموویروس و گیاه میزبان می‌تواند منجر به توسعه و پیشرفت شیوه‌های مدیریت خسارت ناشی از این گروه از بیمارگرها شود.

واژگان کلیدی: بتاستلایت، بگوموویروس، جمینی‌ویروس، مطالعه ژن

مقدمه

در بین جنس‌های تیره *Geminiviridae*، جنس *Begomovirus* به عنوان بزرگ‌ترین جنس در طبقه‌بندی ویروس‌ها دارای بیش از ۴۰۰ گونه است (ICTV). اعضای این جنس با داشتن ژنوم یک یا دوبخشی که همگی با سفیدبالک *Bemisia tabaci* در گیاهان دولپه‌ای انتقال می‌یابند، از سایر جمینی‌ویروس‌ها متمایز می‌شوند (Brown et al. 2015). بگوموویروس‌ها، مسئول بروز بسیاری از بیماری‌های مخرب در گیاهان مهم اقتصادی از قبیل پنبه، کاساوا، گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی هستند (Brown and Bird, 1992, Moriones and Navas-Castillo 2000). بر اساس سازمان‌دهی ژنوم و مطالعات تبارزایی، بگوموویروس‌ها به دو گروه بگوموویروس‌های دنیای جدید و دنیای قدیم تقسیم شده‌اند (Nawaz-ul-Rehman et al. 2009b). اغلب بگوموویروس‌های دنیای جدید دارای ژنوم دوبخشی هستند که با عنوان DNA A و DNA B شناخته می‌شوند، در حالی که بگوموویروس‌های دنیای قدیم اغلب دارای ژنوم یک‌بخشی هستند (Nawaz-ul-Rehman et al. 2009b).

✉ Tabein.saeid@gmail.com

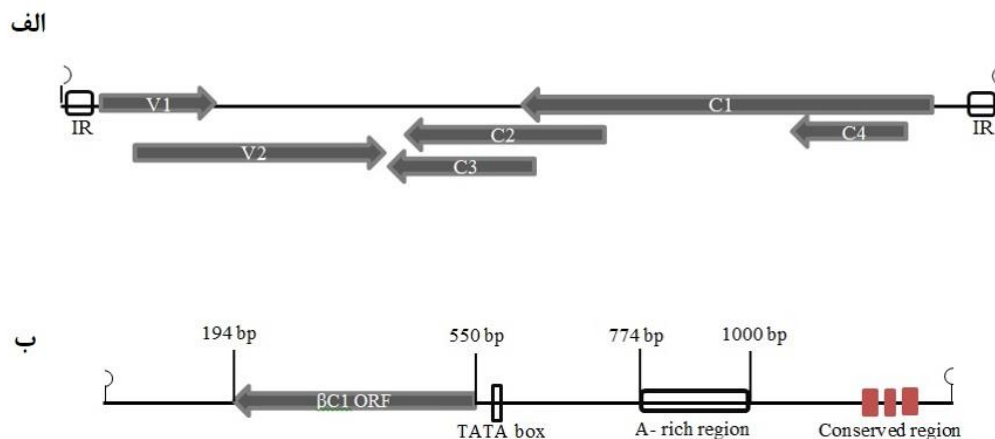
آلودگی بگوموویروس‌های یک‌بخشی عمدتاً با مولکول‌های دی‌ان‌ا کوچک حلقوی به نام بتاستلائی همراه است (Briddon et al. 2008, Stanley 2004). بتاستلائی‌ها با اندازه‌ای کوچک‌تر از ژنوم ویروس، برای همانندسازی، کپسیدپوشی، حرکت در داخل گیاه و انتقال توسط ناقلین به بگوموویروس‌های کمکی خود وابسته هستند (Briddon et al. 2008, Zhou 2013). کمپلکس‌های بگوموویروس/بتاستلائی عمدتاً در دنیای قدیم از جمله کشورهای آسیایی و آفریقایی یافت می‌شوند (Briddon et al. 2003b, Ha et al. 2008).

علاوه بر بتاستلائی‌ها، انواع دیگری از مولکول‌های ستلائی همراه با آلودگی بگوموویروس‌ها شناسایی شده‌اند که عبارت از آلفاستلائی‌ها، بتاستلائی‌های ناقص و دلتاستلائی‌ها هستند (Stanley 2004, Zhou 2013, Lozano et al. 2016). این عناصر دارای تفاوت‌های ساختاری با بتاستلائی‌ها بوده و معمولاً فاقد اثرگذاری مستقیم بر کمپلکس‌های بیماری‌زایی بگوموویروس‌ها هستند (Lozano et al. 2016, Stanley 2004). از آنجایی‌که در بین ستلائی‌های شناسایی شده همراه با بگوموویروس‌ها، این بتاستلائی‌ها هستند که از نقش عمده‌ای در بروز علائم بیماری‌های ناشی از این گروه از ویروس‌ها برخوردارند، در این نوشتار به بررسی سازمان ژنومی و برهمکنش‌های این عوامل با میزبان پرداخته می‌شود. همچنین، جنبه‌های کاربردی استفاده از این عوامل در مطالعات تراریخت‌سازی، بیان ژن و بررسی عملکرد ژن‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرد.

۱- بتاستلائی‌ها: سازمان‌دهی ژنوم

بررسی توالی‌های مختلف بتاستلائی حاکی از وجود سازمان‌دهی ژنومی واحدی است که شامل ناحیه حفاظت‌شده ستلائی (Satellite conserved region, SCR)، ناحیه غنی از آدنین (Adenine-rich region) و یک چارچوب خوانش روی رشته مکمل به نام $\beta C1$ می‌شود. ناحیه حفاظت‌شده بتاستلائی با طول تقریبی ۲۰۰ نوکلئوتید حامل یک ساختار ساقه-حلقه در انتهای ۳' خود است که مشابه مبدأ شروع همانندسازی در جمینی‌ویروس‌ها و نانووویروس‌ها است (Briddon et al. 2003b). ناحیه غنی از آدنین نیز به طور معمول بین ۱۶۰ تا ۲۸۰ نوکلئوتید طول دارد که دربردارنده ۵۷ تا ۶۵ درصد آدنین است (Briddon et al. 2003b). وجود ناحیه غنی از آدنین برای تکثیر و کپسیدپوشی بتاستلائی ضروری نیست (Tao et al. 2004). این احتمال وجود دارد که ناحیه غنی از آدنین به عنوان توالی انطباق‌دهنده اندازه بتاستلائی عمل کند تا بگوموویروس کمکی قادر به حفاظت و پشتیبانی از این مولکول‌ها باشد (Tao et al. 2004). طول عمومی پروتیین رمزگذاری‌شده توسط بتاستلائی‌ها، ۱۱۸ آمینواسید و دارای وزن تقریبی ۱۳/۷ کیلودالتون است (Briddon et al. 2001, Saunders et al. 2000).

بررسی توالی و نیز ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی پروتیین $\beta C1$ نشان داد که این پروتیین یک مولکول با شارژ منفی و نواحی متعدد هیدروفیلیک است که از پایداری نسبتاً پایینی برخوردار می‌باشد (Sarwar et al. 2019). تعیین ساختار سه بُعدی، وجود سه مارپیچ آلفا، چهار صفحه بتا و نیز چهار ناحیه پیچ خورده را در ساختار این پروتیین نشان داد (Sarwar et al. 2019). تمام عملکردهای بتاستلائی‌ها که تا به حال توصیف شده‌اند به پروتیین $\beta C1$ به عنوان یک پروتیین چندکاره وابسته هستند.



شکل ۱. مقایسه سازمان ژنومی بگوموویروس کمکی (الف) و بتاستلایت (ب) با در نظر گرفتن چارچوب‌های خوانش مستقر بر روی رشته ویروسی و مکمل. نواحی حفاظت‌شده بر روی ژنوم بتاستلایت نشان داده شده است. IR: ناحیه بین ژنی، V: چارچوب‌های خوانش مستقر بر روی رشته ویروسی، C: چارچوب‌های خوانش مستقر بر روی رشته مکمل.

Figure 1. Comparison of genome organization between helper begomoviruses (A) and their related betasatellites (B) with considering to virion (V) and complementary (C) sense ORFs. IR: intergenic region.

۲- عملکردهای بتاستلایت به عنوان تعیین‌کننده بیماری‌زایی

حضور بتاستلایت‌ها به هنگام آلودگی ویروس‌های کمکی، در ایجاد علائم زردی در گل ابری (Saunders et al. 2000)، پیچیدگی برگ در پنبه (Qazi et al. 2007)، پیچیدگی برگ زرد در گوجه‌فرنگی به هنگام آلودگی ویروس چینی پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی (Tomato yellow leaf curl) (Cui et al. 2004) (China virus, TYLCCNV Kon et al. 2003)، پیچیدگی برگ در بامیه توسط بگوموویروس‌های ۱ و ۲ بامیه (Jose and Usha 2003)، پیچیدگی شدید برگ و توت‌های شدن در آلودگی ویروس پیچیدگی فلفل (Pepper leaf curl) (Tahir and Mansoor 2011) (virus, PepLCV)، مورد نیاز است.

بتاستلایت‌ها از طریق سرکوب مسیرهای خاموشی آرانی (یا خاموشی ژن) و غلبه بر سیستم دفاع میزبانی، به عنوان تعیین‌کننده‌های بیمارگری در کمپلکس‌های بگوموویروس/بتاستلایت عمل می‌کنند (Bisaro 2006). پروتیین β C1، کمپلکس‌های چندگانه‌ای را به وجود می‌آورد که برای القای علائم در گیاهان آلوده ضروری هستند. این پروتیین همچنین دربردارنده یک سیگنال تعیین موقعیت درون هسته‌ای (Nuclear localization signal, NLS) است که وجود آن برای سرکوب خاموشی ژن ضروری می‌باشد (Cheng et al. 2011). توانایی پروتیین β C1 در برهمکنش با پروتیین پوششی ویروس همراه (Kumar et al. 2006) و مولکول‌های آرانی/آدی‌ان‌ا (Cui et al. 2005) نیز به اثبات رسیده است که می‌تواند نشان از اثرگذاری این پروتیین در حرکت کمپلکس ویروس کمکی/بتاستلایت در درون گیاه و نیز تکثیر ژنوم باشد. در طرف مقابل، برهمکنش پروتیین رمزگذاری شده توسط بتاستلایت‌ها با مسیر پروتئازوم می‌تواند تخریب این پروتیین را در

سیستم دفاع گیاهی به دنبال داشته باشد (Eini et al. 2009). در این بخش به مهم‌ترین برهمکنش‌های $\beta C1$ که سبب القا و توسعه نشانه‌های بیماری در گیاه میزبان می‌شوند، اشاره می‌شود.

۱-۲- سرکوب مسیره‌های خاموشی آران

سرکوب مسیره خاموشی آران به هنگام ترانویسی توسط پروتیین $\beta C1$: ویروس‌های گیاهی در پاسخ به مسیره‌های دفاعی خاموشی آران در گیاه، پروتیین‌های سرکوب‌گر این مسیره‌ها را به خدمت گرفته‌اند (Bisaro 2006). بگوموویروس‌های یک‌بخشی این امکان را دارند که علاوه بر پروتیین‌های سرکوب‌گر رمزگذاری‌شده توسط ژنوم ویروس، از توانایی پروتیین $\beta C1$ به عنوان یک سرکوب‌گر اصلی و قدرتمند در سرکوب مسیره‌های TGS و PTGS بهره ببرند (Briddon et al. 2008). مولکول‌های دی‌ان‌ای تک‌لای ژنوم جمینی‌ویروس‌ها در خلال آلودگی در هسته سلول‌های گیاهی، مولکول‌های حدواسط دی‌ان‌ای دولا را تولید می‌کنند که می‌توانند به عنوان الگو در فرآیندهای ترانویسی و تکثیر مورد استفاده قرار بگیرند و در برهمکنش با هستون‌های سلولی، مینی‌کروموزوم‌هایی را تشکیل دهند (Pilartz et al. 1992, Pilartz et al. 2003). چرخه متیل در هسته سلول‌ها می‌تواند گروه متیل را به مینی‌کروموزوم‌های ایجاد شده منتقل کند و سبب سرکوب مستقیم ترانویسی آران‌ای‌های پیک ویروس یا همان TGS شود (Raja et al. 2008, Rodriguez-Negrete et al. 2009). پروتیین $\beta C1$ می‌تواند نقش تنظیمی منفی بر آنزیم اس-آدنوزیل هوموسیستئین هیدرولاز داشته باشد که به عنوان یک فاکتور در تولید اس-آدنوزیل متیونین عمل می‌کند؛ بنابراین، انتظار می‌رود که چرخه متیل اثرگذار بر ژنوم جمینی‌ویروس‌ها به واسطه کاهش و توقف تولید اس-آدنوزیل متیونین سرکوب شود چرا که این مولکول به عنوان گروه دهنده متیل و نیز یک کوفاکتور در فعالیت آنزیم متیل ترانسفراز عمل می‌کند (Yang et al. 2011). به این ترتیب، سرکوب چرخه متیلاسیون ژنوم ویروس کمکی توسط پروتیین $\beta C1$ ، می‌تواند سبب استقرار و حفاظت بیشتر از کمپلکس‌های جمینی‌ویروس/بتاستلایت شود.

سرکوب مسیره خاموشی ژن پس از ترانویسی توسط پروتیین $\beta C1$: برخلاف ویروس‌های آران‌دار، جمینی‌ویروس‌ها فاقد حدواسط‌های آران دولا در چرخه تکثیر خود هستند اما با وجود این، سبب القای فعالیت پروتیین‌های شبه دایسر در سلول‌های گیاه آلوده می‌شوند (Hohn and Vazquez 2011). به نظر می‌رسد که ترانویسی دوجهته دی‌ان‌ای‌های دولای حدواسط سبب تولید برخی آران‌های دولای ناقص می‌شود. آران پلی‌مراز وابسته به آران شماره ۶ (RNA dependent RNA polymerase 6, RDR6) میزبان، این گروه از ترانوشته‌های ناقص همپوشان را به آران‌های دولای کاملی تبدیل می‌کند که پس از ورود به سیتوپلاسم می‌توانند به عنوان کلید راه‌اندازی خاموشی ژن پس از ترانویسی عمل کنند (Muangsang et al. 2004). پروتیین $\beta C1$ می‌تواند از طریق افزایش فعالیت فاکتور Nbrgs-CaM، به عنوان یک تنظیم‌کننده منفی خاموشی آران، سبب سرکوب بیان آنزیم RDR6 شود (Li et al. 2014). بنابراین، پروتیین $\beta C1$ از طریق ممانعت از تولید آران‌های دولای مشتق شده از ژنوم ویروس کمکی، به طور غیرمستقیم سبب سرکوب مسیره خاموشی ژن پس از ترانویسی می‌شود. به عنوان مثال، سرکوب‌گری پروتیین رمزگذاری شده توسط بتاستلایت همراه با ویروس چینی پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی در گیاه *N. benthamiana* به اثبات رسیده است (Cui et al. 2005). همچنین فعالیت CLCuMuB به عنوان یک سرکوب‌گر خاموشی ژن پس از ترانویسی نیز به اثبات رسیده است به نحوی که حتی در آلودگی همزمان با یک بگوموویروس غیرخودی

نظیر ویروس پیچیدگی برگ گوجه‌فرنگی (Tomato leaf curl virus, ToLCV) سبب کاهش سطح آران‌های کوچک مداخله‌گر مشتق شده از ژنوم ویروس شده است (Eini et al. 2012).

۲-۲- برهمکنش با سایر مسیرها و فاکتورهای میزبانی

توسعه علائم بیماری به طیفی از برهمکنش‌های اختصاصی بین ویروس و اجزای گیاهی نیاز دارد که منجر به اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی و نمو گیاه و در نهایت بروز علائم بیماری می‌شود. سازوکار پروتیین $\beta C1$ در برهمکنش با میزبان که سبب بروز نمو غیرطبیعی در میزبان می‌شود، چندان شناخته‌شده نیست. مطالعات مختلف، برهمکنش بتاستلایت‌ها را با طیفی از مسیرها و فاکتورهای میزبانی به اثبات رسانده است که سبب به کارگیری فرآیندهای میزبان برای ایجاد آلودگی توسط ویروس و نیز مداخله با مسیرهای دفاعی میزبان می‌شوند.

مسیرهای هورمونی: جاسمونیک اسید و مشتقات آن، ژن‌هایی را فعال می‌کنند که در مقاومت در برابر بیمارگرها و حشرات دخیل هستند (Creelman and Mullet 1997). آلودگی گیاهان توسط بگوموویروس‌های همراه با بتاستلایت‌ها نه تنها با بیان بیش از حد علائم همراه است بلکه افزایش جمعیت حشره ناقل *B. tabaci* روی این گیاهان را نیز به دنبال داشته است (Jiu et al. 2007, Zarate et al. 2007). در همین راستا، توانایی پروتیین $\beta C1$ در سرکوب برخی از ژن‌های واکنش‌دهنده به جاسمونیک‌اسید که پروتیین‌های مورد نیاز برای دفاع گیاه در برابر سفیدبالک‌ها را رمزگذاری می‌کنند، به اثبات رسیده است (Yang et al. 2008). توسعه شدید بگوموویروس‌ها طی سال‌های اخیر با گسترش و افزایش فعالیت بیوتیپ *B* سفیدبالک *B. tabaci* همراه بوده است. به نظر می‌رسد که توانایی بتاستلایت‌ها در افزایش جمعیت حشرات ناقل بر روی گیاهان آلوده به کمپلکس‌های بگوموویروس/بتاستلایت می‌تواند در توسعه آلودگی به این عوامل اثرگذار بوده باشد.

مسیرهای کینازی: فاکتور کینازی *SlSnRK1* (SUCROSE-NONFERMENTING1-related kinase) در گوجه‌فرنگی با پروتیین رمزگذاری‌شده توسط بتاستلایت برهمکنش داده و سبب فسفوریله شدن این پروتیین می‌شود (Shen et al. 2011). به عنوان یک واکنش دفاعی، فسفوریلاسیون پروتیین $\beta C1$ توسط این فاکتور می‌تواند سبب افزایش فعالیت مسیر خاموشی ژن به هنگام ترانویسی و در نتیجه کاهش سطح تجمع ژنوم ویروس و بیان علائم شود (Shen et al. 2011). در طرف مقابل، در کمپلکس *TYLCCNV* و بتاستلایت همراه با آن، پروتیین رمزگذاری‌شده توسط بتاستلایت با دو جز از مسیر کینازی وابسته به میتوزن (Mitogen-activated protein kinase, MAPK) برهمکنش داده و سبب سرکوب فعالیت کینازی این اجزا می‌شود (Hu et al. 2019). در این حالت، بتاستلایت به عنوان یک عامل پراآزاری سبب افزایش حساسیت میزبان در برابر جمینی‌ویروس‌ها می‌گردد. در همین کمپلکس، بگوموویروس همراه در یک رفتار دوگانه سبب القا و سرکوب مسیر کینازی MAPK می‌شود (Hu et al. 2019).

اصلاحات پس از ترجمه: یوبیکوئیتیلیلاسیون (Ubiquitylation) و سایر مسیرهای شبیه به آن از جمله سوموئیلیلاسیون (SUMOylation) و میریستوئیلیلاسیون (Myristoylation)، فرآیندهای اصلاحی پس از ترجمه‌ای هستند که عملکرد، ساختار و موقعیت درون سلولی پروتیین‌ها را تعیین می‌کنند (Hanley-Bowdoin et al. 2013, Sanchez-Duran et al. 2011). یوبیکوئیتیلیلاسیون شامل فعالیت سه گروه آنزیمی است. آنزیم E1 که فعال‌سازی گروه یوبیکوئیتین را انجام می‌دهد، آنزیم E2 که به گروه یوبیکوئیتین

متصل می‌شود و در نهایت آنزیم E3 که اتصال گروه یوبیکوئیتین به پروتئین‌های هدف را ممکن می‌سازد (Hanley-Bowdoin et al. 2013). اضافه شدن یک گروه یوبیکوئیتین به پروتئین هدف می‌تواند سبب اصلاح در ساختار و فعالیت‌های آن شود، در حالی که اضافه شدن چند گروه یوبیکوئیتین (Polyubiquitylation) می‌تواند سبب تخریب پروتئین هدف به واسطه معرفی آن به مسیر پروتئازوم (Proteasome) گردد (Hanley-Bowdoin et al. 2013). پروتئین $\beta C1$ رمزگذاری شده توسط CLCuMuB با یک آنزیم متصل‌شونده به یوبیکوئیتین به نام SIUBC3 به شیوه‌ای اختصاصی برهمکنش می‌دهد. مطالعات از طریق ایجاد جهش یافته‌های مختلف نشان داد که وجود یک موتیف شبه میریستوئیلایسون در $\beta C1$ برای برقراری این برهمکنش و نیز القای علایم آلودگی ضروری است که دلیل آن می‌تواند کاهش اثر مسیر پروتئازوم بر پروتئین رمزگذاری شده توسط بتاستلایت باشد (Eini et al. 2009). در سمت مقابل مشخص شده است که یکی از آنزیم‌های E3 کاربردی در توتون به نام NtRFP1، توانایی برهمکنش با پروتئین $\beta C1$ را دارد و به واسطه اضافه کردن بیش از یک گروه یوبیکوئیتین سبب معرفی این پروتئین به مسیر پروتئازوم و تخریب آن و در نتیجه کاهش علایم آلودگی می‌شود (Shen et al. 2016).

تنظیم نمو برگ: دو فاکتور AS1 (ASYMMETRIC LEAVES 1) و AS2 (ASYMMETRIC LEAVES 2) به فرم کمپلکس AS1/AS2، به عنوان تنظیم‌کننده‌های نمو برگ شناخته می‌شوند (Yang et al. 2008). مشخص شده است که پروتئین رمزگذاری شده توسط بتاستلایت وابسته به ویروس چینی پیچیدگی برگ زرد گوجه‌فرنگی قادر به برهمکنش با فاکتور AS1 است و این موضوع می‌تواند سبب تغییراتی در نمو برگ شود که در نهایت بروز علایم بیماری را به همراه دارد. همچنین، پروتئین $\beta C1$ به طور نسبی قادر به انجام وظایف فاکتور AS2 در جهش‌یافته‌های *as2* بود که نشان‌دهنده تقلید پروتئین $\beta C1$ از فاکتور نمو برگ است (Yang et al. 2008).

موقعیت درون سلولی پروتئین رمزگذاری شده توسط بتاستلایت‌ها مطابق با الگوی بگوموویروس‌های یک‌بخشی کمکی آنها به بافت آبکشی میزبان محدود می‌شود (Eini et al. 2017). تغییری دیگر در ارتباط با موقعیت درون سلولی این عوامل که در رشد و نمو برگ‌ها اثرگذار است، علایم رگبرگ روشنی است که در آلودگی‌های سیستمیک برخی از کمپلکس‌های بگوموویروس/بتاستلایت مشاهده می‌شود. در این کمپلکس‌ها، پروتئین $\beta C1$ در ارتباط با کلروپلاست‌های سلول‌های بافت آبکشی میزبان استقرار می‌یابد و سبب کاهش بیان ژن‌های فعال در بیوسنتز کلروفیل، ساختمان کلروپلاست‌ها و نیز جایگیری پلاستیدها می‌شود (Bhattacharyya et al. 2015). بنابراین وجود و اثرگذاری بتاستلایت‌ها، سبب تخریب یکپارچگی ساختاری و عملکردی کلروپلاست‌ها و به دنبال آن توسعه علایم رگبرگ روشنی در میزبان می‌شود (Bhattacharyya et al. 2015).

۳- بتاستلایت‌ها به عنوان ابزارهای ژنتیکی

مطالعات کاربردی مختلف شیوه‌هایی را برای استفاده از بتاستلایت‌ها به عنوان ابزارهایی در الف. خاموشی ژن القاشده توسط ویروس (Virus Induced Gene Silencing, VIGS)، ب. بیان ژن و نیز در ج. القای مقاومت علیه جمینی‌ویروس‌ها، معرفی نموده‌اند (Ataie Kachoeie et al. 2016, Kharazmi et al. 2012, Kharazmi et al. 2016, Pakniat-Jahromy et al. 2010b).

خاموشی ژن القا شده توسط ویروس: بر سازوکار خاموشی استوار است که بیان ژن‌ها را از طریق تخریب اختصاصی مولکول‌های آرنا تنظیم می‌کند (Robertson, 2004). این سیستم می‌تواند در مطالعات تعیین عملکرد ژن‌ها به واسطه کاهش بیان یک ژن و بررسی فنوتیپ‌های ایجاد شده مورد استفاده قرار گیرد (Carrillo-Tripp *et al.* 2006). ناقلین VIGS مختلفی بر اساس استفاده از ویروس‌های آرنا دار و دی‌ان‌ا دار ایجاد شده و توسعه یافته‌اند که به منظور مطالعه عملکرد ژن‌ها در طیف وسیعی از گیاهان مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Peele *et al.* 2001, Fofana *et al.* 2004). اندازه کوچک ژنوم، سهولت مایه‌زنی، دامنه میزبانی وسیع و سازمان‌بندی ژنومی محافظت‌شده از جمله مزایای جیمینی‌ویروس‌ها است که آنها را به ناقلین VIGS کارآمدی تبدیل کرده است (Turnage *et al.* 2002). جایگزینی چارچوب خوانش $\beta C1$ در CLCuMuB با بخش کوچکی از توالی پیش‌بر ژن چالکون سنتاز A (مسئول تولید رنگدانه در گیاه اطلسی، Chalcone synthase, *ChsA*) و مایه‌زنی آن با استفاده از سازه‌های عفونت‌زای بتاستلایت نو ترکیب در حضور ویروس کمکی به گیاهان اطلسی سبب سرکوب ژن داخلی گیاه اطلسی و در نتیجه کاهش رنگ گل‌ها در گیاهان مورد تیمار شد (Kharazmi *et al.* 2012, Xiaorong *et al.* 2006). سازوکار جایگزینی توالی چارچوب خوانش $\beta C1$ با توالی ژن‌های بیگانه، امکان ایجاد علایم شدید در گیاهان به هنگام آلودگی با بگمووویروس کمکی را از بین می‌برد و بنابراین امکان بررسی فنوتیپ خاموشی ژن مورد نظر وجود خواهد داشت. همچنین با توجه به استفاده بتاستلایت‌ها از یک توالی پیش‌بر قوی در بالادست چارچوب خوانش $\beta C1$ (Eini *et al.* 2005, Saeed *et al.* 2009)، امکان افزایش کارایی خاموشی ژن در استفاده از این گروه از ناقلین وجود خواهد داشت.

امکان استفاده از بتاستلایت‌ها به عنوان ناقلین انتقال و بیان ژن‌های بیگانه در شرایط درون-گیاهی (In planta) نیز در صورت حذف چارچوب خوانش $\beta C1$ وجود دارد. بر این اساس، امکان انتقال و بیان ژن B-2 cell lymphoma انسانی (Bcl-2) و نیز ژن پروتیین پوششی ویروس نقص سیستم ایمنی انسان (Human immune deficiency virus, HIV) در گیاهان گوجه‌فرنگی و توتون با استفاده از CLCuMuB فاقد چارچوب خوانش $\beta C1$ مورد ارزیابی قرار گرفت و نشان داده شد که پروتیین‌های مذکور در حضور ویروس کمکی خود به میزان قابل توجهی در گیاه هدف بیان می‌شوند (Ataie Kachoeie *et al.* 2018, Kharazmi *et al.* 2016).

القای مقاومت: در طی دو دهه گذشته استراتژی‌های متعدد مهندسی ژنتیک در راستای ایجاد تداخل در بیان ژن‌های ویروسی مورد استفاده قرار گرفته‌اند که اغلب آنها بر مقاومت مشتق شده از بیمارگر از قبیل بیان پروتیین‌های ناقص ویروسی و یا ترانویسی توالی‌های آرنا ویروسی تأکید داشته‌اند (Vanderschuren *et al.* 2007). با وجود این، برخی از استراتژی‌های مستقل از بیمارگر نیز جهت القای مقاومت به جیمینی‌ویروس‌ها معرفی شده‌اند که سبب جلوگیری از آلودگی این گروه از ویروس‌ها و یا کاهش اثرات مخرب آنها شده‌اند. از جمله این استراتژی‌ها می‌توان به بیان پروتیین‌های کشنده القا پذیر توسط جیمینی‌ویروس‌ها و یا بیان پروتیین‌های متصل‌شونده به دی‌ان‌ا جیمینی‌ویروس‌ها در گیاهان از قبیل همولوگ‌های GroEL اشاره نمود (Shepherd *et al.* 2009). یکی از مهم‌ترین پروتیین‌های کشنده‌ای که در این مطالعات مورد استفاده قرار گرفته است، پروتیین بارنیز (Barnase) رمزگذاری شده توسط ژنوم باکتری *Bacillus amyloliquefaciens* است که در صورت بیان در سلول‌ها، سبب مرگ سلولی و جلوگیری از گسترش آلودگی به سلول‌های مجاور

آن می‌شود (Brett 2007). بتاستلایت حامل توالی ژن بارنیز (جایگزین شده با توالی ژن $\beta C1$) در صورت حضور بگوموویروس کمکی، قادر به همانندسازی است (Pakniat-Jahromy et al. 2010). انتقال سازه بتاستلایت بیان‌کننده بارنیز به گیاه توتون، سبب ایجاد گیاهان تراریخت مقاوم در برابر ToLCV-Au شد (Pakniat-Jahromy et al. 2010). این سازه، در غیاب ویروس بیان نمی‌شود، اما در صورت بروز آلودگی امکان بیان می‌یابد که در نتیجه آن پروتیین بارنیز بیان شده و در اثر مرگ سلولی از گسترش آلودگی ویروسی به سلول‌های مجاور جلوگیری می‌کند. از آنجایی که جمینی‌ویروس‌های مختلف امکان حمایت از تکثیر بتاستلایت را دارند، می‌توان انتظار داشت که استفاده از ناقل بتاستلایت گزینه مناسبی برای القای مقاومت در برابر طیف وسیعی از جمینی‌ویروس‌ها و نیز استفاده در مطالعات تعیین عملکرد ژن‌ها باشد.

نتیجه‌گیری

در طی دو دهه گذشته آلودگی بگوموویروس‌های یک‌بخشی به دامنه میزبانی بیشتر و مناطق جغرافیایی وسیع‌تری گسترش یافته است. می‌توان گفت که موفقیت این گروه از بیمارگرها تا حدود زیادی مدیون بتاستلایت‌ها است چراکه این دی‌ان‌اهای کوچک، شرایط را برای آلودگی و انتقال بگوموویروس‌ها تا حدود زیادی تسهیل می‌کنند. بتاستلایت‌ها این توانایی را دارند که آلودگی‌های معمولی را از طریق اثرگذاری بر تنظیم‌کننده‌های رشدی، مسیرهای دفاعی، اصلاحات پروتیینی پس از ترجمه و نیز کارایی ناقلین، به کمپلکس‌های بیماری‌زایی مخربی تبدیل کنند. در طرف مقابل نیز، گیاهان به واسطه مسیرهای فسفوریلاسیون و پروتئازوم سعی بر سرکوب اثرگذاری پروتیین رمزگذاری‌شده توسط بتاستلایت‌ها دارند. کنار قدرت مخرب بیماری‌زایی این گروه از ستلایت‌ها، امکان استفاده از آنها به عنوان ناقلین VIGS و نیز ناقلین بیان و مقاومت، فرصت مناسبی را در ایجاد شیوه‌های نوین در کنترل و کاهش خسارت ناشی از آلودگی جمینی‌ویروس‌ها فراهم آورده است.

References

منابع

1. Ataie Kachoie E, Behjatnia SAA, Kharazmi S (2018) Expression of Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1) coat protein genes in plants using cotton leaf curl Multan betasatellite-based vector. PLoS One 13:e0190403.
2. Bhattacharyya D, Gnanasekaran P, Kumar RK, Kushwaha NK, Sharma VK, Yusuf MA, Chakraborty S (2015) A geminivirus betasatellite damages the structural and functional integrity of chloroplasts leading to symptom formation and inhibition of photosynthesis. Journal of Experimental Botany 66:5881-5895.
3. Bisaro DM (2006) Silencing suppression by geminivirus proteins. Virology 344:158-168.
4. Brett W (2007) Development of a novel Rep-inducible Tomato leaf curl virus expression system. A thesis submitted for the degree of doctor of philosophy at the Queensland University of Technology, Queensland, Australia.
5. Briddon RW, Brown JK, Moriones E, Stanley J, Zerbini M, Zhou X, Fauquet CM (2008) Recommendations for the classification and nomenclature of the DNA-beta satellites of begomovirus. Archives of Virology 153:763-781.
6. Briddon RW, Bull SE, Amin I, Idris AM, Mansoor S, Bedford ID, Dhawan P, Rishi N, Siwatch SS (2003) Diversity of DNA β , a satellite molecule associated with some monopartite begomoviruses. Virology 312:106-121.

7. Briddon RW, Mansoor S, Bedford ID, Pinner MS, Saunders K, Stanley J, Zafar Y, Malik KA, Markham PG (2001) Identification of DNA components required for induction of cotton leaf curl disease. *Virology* 285:234-243.
8. Brown JK, Bird J (1992) Whitefly-transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and the Caribbean Basin. *Plant Disease* 76:220-225.
9. Brown JK, Murilo Zerbini F, Navas-Castillo J, Moriones E, Ramos-Sobrinho R, Silva JCF, Fiallo-Olive E, Briddon RW, Hernandez-Zepeda C, Idris A, Malathi VG, Martin DP, Rivera-Bustamante R, Ueda S, Varsani A (2015) Revision of *Begomovirus* taxonomy based on pairwise sequence comparisons. *Archives of Virology* 160:1593-1619.
10. Carrillo-Tripp J, Shimada-Beltran H, Rivera-Bustamante R (2006) Use of geminiviral vectors for functional genomics. *Current Opinion of Plant Biology* 9:209-215.
11. Cheng X, Wang X, Wu J, Briddon RW, Zhou X (2011) β C1 encoded by tomato yellow leaf curl China betasatellite forms multimeric complexes in vitro and in vivo. *Virology* 409:156-162.
12. Creelman RA, Mullet J (1997) Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Plant Physiology* 48:355-381.
13. Cui XF, Li GX, Wang DW, Wu DW, Zhou XP (2005) A begomoviral DNA (encoded protein bind DNA, functions as a suppressor of RNA silencing and targets to the cell nucleus. *Journal of Virology* 79:10764-10775.
14. Cui XF, Tao XR, Xie Y, Fauquet CM, Zhou XP (2004) A DNA beta associated with *Tomato yellow leaf curl china virus* is required for symptom induction. *Journal of Virology* 78:13966-13974.
15. Eini O, Dogra S, Selth LA, Dry IB, Randles JW, Rezaian MA (2009) Interaction with a Host Ubiquitin-Conjugating Enzyme Is Required for the Pathogenicity of a Geminiviral DNA β Satellite. *Molecular Plant Microbe Interaction* 22:737-746.
16. Eini O, Dogra SC, Dry IB, Randles JW (2012) Silencing suppressor activity of a begomovirus DNA β encoded protein and its effect on heterologous helper virus replication. *Virus Research* 167:97-101.
17. Eini O, Rasheed MS, Randles JW (2017) In situ hybridization and promoter analysis reveal that cotton leaf curl Multan betasatellitelocalizes in the phloem. *Acta Virologica* 61:23-31.
18. Fofana IBF, Sangare A, Collier R, Taylor C, Fauquet CM (2004) A geminivirus-induced gene silencing system for gene function validation in cassava. *Plant Molecular Biology* 56:613-624.
19. Ha C, Coombs S, Revil P, Harding R, Vu M, Dale J (2008) Molecular characterization of begomoviruses and DNA satellites from Vietnam: Additional evidence that the New World geminiviruses were present in the Old World prior to continental separation. *Journal of General Virology* 89:312-326.
20. Hanley-Bowdoin L, Bejarno ER, Robertson D, Mansoor S (2013) Geminiviruses: masters at redirecting and reprogramming plant processes. *Nature Reviews Microbiology* 11:777-788.
21. Hohn T, Vazquez F (2011) RNA silencing pathways of plants: silencing and its suppression by plant DNA viruses. *Biochim Biophys Acta* 1809:588-600.
22. Hu T, Huang C, He Y, Castillo-Gonzalez C, Gui X, Wang Y, Zhang X, Zhou X (2019) β C1 protein encoded in geminivirus satellite concertedly targets MKK2 and MPK4 to counter host defense. *PLoS Pathogen* 18:e1007728.

23. Jiu M, Zhou XP, Tong L, Xu J, Yang X, Wan FH, Liu SS (2007) Vector-virus mutualism accelerates population increase of an invasive whitefly. PLoS One 2:e182.
24. Jose J, Usha R (2003) Bhendi yellow vein mosaic disease in India is caused by association of a DNA beta satellite with a begomovirus. Virology 305:310-317.
25. Kharazmi S, Ataie Kachoei E, Behjatnia SAA (2016) Cotton leaf curl Multan betasatellite DNA as a tool to deliver and express the human B-cell lymphoma2 (*Bcl-2*) gene in plants. Molecular Biotechnology 58:362-372.
26. Kharazmi S, Behjatnia SAA, Hamzehzarghani H, Niazi A (2012) Cotton leaf curl Multan betasatellite as a plant gene delivery vector trans-activated by taxonomically diverse geminiviruses. Archives of Virology 157:1269-1279.
27. Kon T, Rojas MR, Abdourhamane IK, Gilbertson RL (2009) Roles and interactions of begomoviruses and satellite DNAs associated with okra leaf curl disease in Mali, West Africa. Journal of General Virology 90:1001-1013.
28. Kumar PP, Usha R, Zrachya A, Levy Y, Spanov H, Gafni Y (2006) Protein-protein interactions and nuclear trafficking of coat protein and β C1 protein associated with Bhendi yellow vein mosaic virus. Virus Research 122:127-136.
29. Li F, Huang C, Li Z, Zhou X (2014) Suppression of RNA silencing by a plant DNA virus satellite requires a host calmodulin-like protein to repress *RDR6* expression. PLoS Pathogens 10: e1003921.
30. Lozano G, Trenado HP, Fiallo-Olivé E, Chirinos D, Geraud-Pouey F, Briddon RW, Navas-Castillo J (2016) Characterization of Non-coding DNA Satellites Associated with Sweepoviruses (Genus Begomovirus, Geminiviridae) - Definition of a Distinct Class of Begomovirus-Associated Satellites. Frontiers in Microbiology 7:162.
31. Moriones E, Navas-Castillo J (2000) Tomato yellow leaf curl virus, an emerging virus complex causing epidemics worldwide. Virus Research 71:123-134.
32. Muangsang N, Beclin C, Vaucheret H, Robertson D (2004) Geminivirus VIGS of endogenous genes requires SGS2/SDE1 and SGS3 and defines a new branch in the genetic pathway for silencing in plants. Plant Journal 38:1004-1014.
33. Nawaz-ul-Rehman MS, Mansoor S, Briddon RW, Fauquet CM (2009b) Maintenance of an old world betasatellite by a new world helper begomovirus and possible rapid adaptation of the betasatellite. Journal of Virology 83:9347-9355.
34. Pakniat-Jahromy A, Behjatnia SAA, Dry IB, Izadpanah K, Rezaian MA (2010) A new strategy for generating geminivirus resistant plants using a DNA betasatellite/split barnase construct. Journal of Virological Methods 170:57-66.
35. Peele C, Jordan CV, Muangsang N, Turnage M, Egelkrout E, Eagle P, Hanley-Bowdoin L, Roberson D (2001) Silencing of a meristematic gene using geminivirus derived vectors. Plant Journal 27:357-366.
36. Pilartz M, Jeske H (1992) Abutilon mosaic virus double-stranded DNA is packed into minichromosomes. Virology 189:800-802.
37. Pilartz M, Jeske H (2003) Mapping of abutilon mosaic geminivirus minichromosomes. Journal of Virology 77:10808-10818.
38. Qazi J, Amin I, Mansoor S, Iqbal MJ, Briddon RW (2007) Contribution of the satellite encoded gene beta C1 to cotton leaf curl disease symptoms. Virus Research 128:135-139.
39. Raja P, Sanville BC, Buchmann RC, Bisaro DM (2008) Viral genome methylation as an epigenetic defense against geminiviruses. Journal of Virology 82:8997-9007.

40. Robertson D (2004) VIGS vectors for gene silencing: many targets, many tools. *Annual Review of Plant Biology* 55:494-519.
41. Rodriguez-Negrete EA, Carrillo-Trip J, Rivera-Bustamante RF (2009) RNA silencing against geminivirus: Complementary action of posttranscriptional gene silencing and transcriptional gene silencing in host recovery. *Journal of Virology* 83:1332-1340.
42. Saeed M, Behjatnia SA, Mansoor S, Zafar Y, Hasnain S, Rezaian MA (2005) A single complementary-sense transcript of a geminiviral DNA β satellite is determinant of pathogenicity. *Molecular Plant Microbe Interaction* 18:7-14.
43. Sanchez-Duran M, Dallas MB, Ascencio-Ibanez J, Reyes MI, Arroyo-Mateos M, Ruiz-Albert J, Hanley-Bowdoin L, Bejarano E (2011) Interaction between Geminivirus replication protein and the SUMO-conjugating enzyme is required for viral infection. *Journal of Virology* 85:9789-9800.
44. Sarwar MW, Riaz A, Nahid N, Al Qahtani A, Ahmed N, Nawaz-Ul-Rehman MS, Younus A, Mubin M (2019) Homology modeling and docking analysis of β C1 protein encoded by Cotton leaf curl Multan betasatellite with different plant flavonoids. *Heliyon* 5:e01303.
45. Saunders K, Bedford ID, Briddon RW, Markham PG, Wong SM, Stanley J (2000) A unique virus complex causes Ageratum yellow vein disease. *Proceedings of the National Academy of Science of the America* 97:6890-6895.
46. Shen Q, Hu T, Bao M, Cao L, Zhang H, Song F, Xie Q, Zhou X (2016) The novel tobacco RING E3 ligase NtRFP1 mediates ubiquitination and proteasomal degradation of a geminivirus-encoded β C1. *Molecular Plant* 9:911-925.
47. Shen Q, Liu Z, Sing F, Xie Q, Hanley-Bowdoin L, Zhou X (2011) Tomato SlSnRK1 Protein Interacts with and Phosphorylates β C1, a Pathogenesis Protein Encoded by a Geminivirus β -Satellite. *Plant Physiology* 157:1394-1406.
48. Shepherd DN, Martin DP, Thomson JA (2009) Transgenic strategies for developing crops resistant to geminiviruses. *Plant Science* 176:1-11.
49. Stanley J (2004) Subviral DNAs associated with geminivirus disease complexes. *Veterinary Microbiology* 98:121-129.
50. Tahir M, Mansoor S (2011) β C1 of chili leaf curl betasatellite is a pathogenicity determinant. *Virology* 8:509-511.
51. Tao XR, Qing L, Zhou XP (2004) Function of A-Rich region in DNA β associated with *Tomato yellow leaf curl china virus*. *Chinese Science Bulletin* 49:1490-1493.
52. Turnage MA, Muangsang N, Peele CG, Robertson D (2002) Geminivirus based vectors for gene silencing in *Arabidopsis*. *Plant Journal* 30:107-114.
53. Vanderschuren H, Stupak M, Fütterer J, Gruissem W, Zhang P (2007) Engineering resistance to geminiviruses-review and perspectives. *Plant Biotechnology Journal* 5:207-220.
54. Xiaorong T, Yajuan Q, Xueping Z (2006) Modification of a viral satellite DNA-based gene silencing vector and its application to leaf or flower discoloration in *Petunia hybrida*. *Chinese Science Bulletin* 51:2208-2213.
55. Yang JY, Iwasaki M, Machida C, Machida Y, Zhou X, Chau NH (2008) β C1, the pathogenicity factor of TYLCCNV, interacts with AS1 to alter leaf development and suppress selective jasmonic acid responses. *Genes and Development* 22:2564-2577.

56. Yang X, Xie Y, Raja P, Li S, Wolf SN, Shen Q, Bisaro DM, Zhou X (2011) Suppression of Methylation-Mediated Transcriptional Gene Silencing by β C1-SAHH Protein Interaction during Geminivirus-Betasatellite Infection. PLoS Pathogens 7:e1002329.
57. Zarate SI, Kempema LA, Walling LL (2007) Silver leaf whitefly induces salicylic acid defenses and suppresses effectual jasmonic acid defenses. Plant Physiology 143:866-875.
58. Zhou X (2013) Advances in understanding begomovirus satellites. Annual Review of Phytopathology 51:357-381.



Extensional Article Dutch elm disease

MARZIEH MEHRABIOUN MOHAMMADI, NARGES AHMADI,
MAHDI ARZANLOU✉

Department of Plant Protection, Tabriz University, Tabriz, Iran

Received: 18.01.2020

Accepted: 02.03.2020

Mehrabioun Mohammadi M, Ahmadi N, Arzanlou M (2020) Dutch elm disease. Plant Pathology Science 9(1):91-100. DOI: 10.2982/PPS.9.1.91.

Abstract

Elm trees are one of the most important ornamental trees and are widely used in the design of urban green spaces. Dutch elm disease is recognized as one of the most important elm diseases in the world. The disease has become an epidemic worldwide and at least three species of *Ophiostoma* including *O. ulmi*, *O. novo-ulmi* and *O. Himal-ulmi* that differ in geographical distribution and invasion power, are involved in this disease. In Iran, *O. ulmi* and *O. novo-ulmi* are known to involve in this disease, with *O. novo-ulmi* being more virulent. Management of the disease is mainly achieved through preventive and quarantine methods, health measures, resistant cultivars and the use of chemical compounds. Various aspects of the disease, including disease symptoms and signs, pathogen biology and ecology, disease management methods are reviewed in this paper.

Keywords: *Ophiostoma*, Flag leaf, Bark beetles, Wilt

✉ Arzanlou@tabrizu.ac.ir

مقاله ترویجی

بیماری مرگ هلندی نارون

مرضیه محرابیون محمدی، نرگس احمدی، مهدی ارزنلو✉

گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه تبریز

دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۱۸

پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۱۲

محرابیون محمدی م، احمدی ن، ارزنلو م (۱۳۹۸) بیماری مرگ هلندی نارون. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۹(۱):

DOI: 10.2982/PPS.9.1.91. ۹۱-۱۰۰

چکیده

نارون از مهم‌ترین درختان زینتی به‌شمار می‌رود و در طراحی فضاهای سبز شهرها کاربرد فراوان دارد. بیماری مرگ هلندی نارون به‌عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های نارون در دنیا شناخته شده است این بیماری در حال حاضر پراکنش جهانی داشته و حداقل سه گونه *Ophiostoma* از جمله *O. ulmi*, *O. novo-ulmi* و *O. himal-ulmi* در ایجاد بیماری دخیل هستند که از نظر پراکنش جغرافیایی و قدرت تهاجم با هم متفاوت هستند. در ایران دو گونه *O. ulmi* و *O. nov-ulmi* به‌عنوان عامل بیماری گزارش شده‌اند، که جدایه‌های گونه *O. novo-ulmi* دارای قدرت بیماری‌زایی بیشتری نسبت به جدایه‌های *O. ulmi* می‌باشند. مدیریت بیماری با روش‌های پیشگیری و قرنطینه، اقدامهای بهداشتی، کاشت رقم مقاوم و استفاده از سم‌های شیمیایی عملی است. جنبه‌های مختلف بیماری شامل نشانه‌ها، زیست‌شناسی و بوم‌شناسی بیمارگرها و روش‌های مدیریت آن در این مقاله شرح داده شده است.

واژگان کلیدی: *Ophiostoma*، برگ پرچمی، سوسک‌های پوستخوار، پژمردگی

مقدمه

گونه‌های نارون (*Ulmus spp.*) از جمله درختان جنگلی و زینتی با ارزش به‌شمار می‌آیند که با توجه به کاربردها و سازگاری آن با محیط آلوده شهرها، یکی از گونه‌های پرکاربرد در طراحی فضای سبز شهری به‌شمار می‌روند (Stipes and Campana 1981). علی‌رغم مقاومت نسبی گونه‌های نارون در برابر تنش‌های محیطی از جمله تحمل به شوری و باد، رشد نسبتاً سریع در هر نوع خاک، چوب با ارزش، تحمل نسبت به جابه‌جایی و فشارهای فیزیکی و فشردگی خاک (Tubby and Webber 2010)، این درخت در برابر طیف وسیعی از آفت‌ها و بیماری‌ها حساس می‌باشد. بیماری مرگ هلندی نارون مهم‌ترین و مخرب‌ترین بیماری گونه‌های نارون در اروپا، آمریکای شمالی و آسیا می‌باشد. اولین گزارش بیماری در فرانسه بود که سپس از کشورهای هلند و بلژیک نیز گزارش گردید، البته توصیف این بیماری نخستین بار توسط یک گیاه‌شناس هلندی به نام دینا اسپیرنبرگ در سال ۱۹۱۹ انجام گردید (Rahnama and Taheri 2004). عامل این بیماری متعلق به شاخه Ascomycota، راسته Ophiostomatales، رده Sordariomycetes و جنس *Ophiostoma* می‌باشد. حداقل سه گونه

✉ Arzanlou@tabrizu.ac.ir

Ophiostoma از جمله *O. ulmi*، *O. novo-ulmi* و *O. himal-ulmi* در ایجاد بیماری دخیل هستند که از نظر پراکنش جغرافیایی و قدرت تهاجم با هم متفاوت هستند. دوتا همه‌گیری توسط این بیماری اتفاق افتاده است اولی در دهه ۱۹۱۰ که این بیماری توسط گونه *O. ulmi* در اروپا و ۲۰ سال بعد از آن در آمریکای شمالی باعث از بین رفتن جمعیت زیادی از نارون‌ها شد و در سال ۱۹۴۰ این بیماری در اروپا کاهش پیدا کرد. چندین سال بعد در اواسط قرن بیستم میلادی دومین و مخرب‌ترین همه‌گیری باعث خسارت جبران‌ناپذیری در اروپا، آسیای غربی و شمال آمریکا شد که توسط گونه *O. novo-ulmi* ایجاد شد که تقریباً جایگزین گونه اول شده است. گونه *O. novo-ulmi* دارای دو زیر گونه *americana* و *novo-ulmi* است (Santini and Faccoli 2015). تاریخچه پیدایش این بیماری در ایران بر اساس منابع معتبر اولین بار در سال ۱۳۳۸ از جنگل‌های گلستان روی درختان اوجا و ملج مشاهده و به بقیه نقاط گسترش یافته است (Afsharpour and Adeli 1974). میزان دقیقی از خسارت این بیماری در کشورمان برآورد نشده ولی بر اساس مسیریابی‌های به عمل آمده در کشور تا به حال حدود یک میلیون اصله درخت نارون اوجا و ملج طی چهل سال گذشته بر اثر این بیماری از بین رفته‌اند. نخستین گزارش رسمی از عامل بیماری هلندی نارون در ایران نیز توسط ابراهیمی و مکناب از روی درختان اوجا و از جنگل‌های آستارا است. بریزر نیز در سال ۱۹۷۷ برای اولین بار از چاچکم مازندران و اسالم گیلان این بیماری را گزارش کرده است (Rahnama and Taheri 2004).

۱- نشانه‌های بیماری

اولین نشانه‌ها به صورت تغییر رنگ یا افتادگی برگ در نوک شاخه بروز می‌نماید. سپس برگ‌ها زرد شده، پیچیده و بلافاصله پس از قهوه‌ای شدن ریزش پیدا می‌کنند و یا برگ‌ها به سرعت سبز خشک شده و برای هفته‌ها روی شاخه‌ها باقی می‌مانند. شاخه‌های پژمرده که چند برگ خشک شده در انتهای آنها قرار دارد با اصطلاح پرچم (Flag) شناخته می‌شود. پرچم‌های کوچک با تغذیه سوسک‌های پوست‌خوار از محل انشعاب شاخه‌ها توسعه می‌یابند (Sinclair et al. 1987).

نشانه مشخصه برای تشخیص مرگ هلندی نارون، معمولاً به صورت قهوه‌ای شدن آوندهای چوبی کل حلقه رشد بیرونی شاخه‌های آلوده است که در برش مقطع عرضی دیده می‌شود. همین‌طور رگه‌های قهوه‌ای نیز پس از حذف پوست مشاهده می‌شوند. تغییر رنگ ایجاد شده به دلیل تیلوز تولید شده توسط میزبان در واکنش به عفونت قارچی می‌باشد (Duchesne 1993). بروز نشانه‌ها معمولاً بین تیرماه تا برگ‌ریزان پاییزی رخ می‌دهد. نشانه‌های ظاهری ایجاد شده توسط عامل بیماری مرگ هلندی نارون، به عنوان مهم‌ترین عامل پژمردگی شناخته شده روی این میزبان، به صورت تنک شدن شاخ و برگ، پژمردگی و زرد شدن و در نهایت نکروزه شدن برگ‌ها و زوال عمومی تاج درخت مشاهده می‌شود. نشانه بیماری در اوایل تابستان به صورت پژمردگی، زردی و سپس قهوه‌ای و خشک شدن سریع برگ‌ها در سرشاخه‌ها بوده و برگ‌ها پس از خشک شدن اغلب به صورت انتهایی روی شاخه‌ها باقی می‌مانند. سرشاخه‌های آلوده در بیشتر موارد دارای پیچیدگی‌های محسوسی می‌باشند. در مورد برخی میزبان‌ها فارغ از بروز نشانه ظاهری، تنها تغییر رنگ در برش عرضی گواه بر وجود آلودگی می‌باشد. بیماریهای پژمردگی اغلب توسط قارچ‌هایی ایجاد می‌شوند که با اختلال سریع در جریان انتقال آب، موجب تنش شدید

رطوبتی و پژمردگی در اندام‌های هوایی شده و در نهایت، مرگ درخت را سبب می‌شوند. تغییر رنگ ایجاد شده در قسمت کامبیوم آوندی توسط عامل این بیماری به صورت دایره ناپیوسته قهوه‌ای در محل آوندهای چوبی بهاره می‌باشد. بیماری در برخی موارد منجر به خشک شدن کل درخت تا پایان تابستان می‌گردد ولی در بیشتر موارد بیماری طی چند سال موجب نابودی درخت می‌شود، به طوری که نشانه‌های بیماری در هر سال نسبت به سال قبل تشدید می‌شود. آلودگی‌های ایجاد شده در اواخر تابستان، پیشرفت کند داشته و فقط شاخه‌های معدودی تغییرات را نشان می‌دهند (Jürisoo et al. 2019) در صورت کنار زدن پوست شاخه‌ها، تنه و ندرتاً ریشه در درختان آلوده می‌توان به راحتی لکه‌ها یا خطوط قهوه‌ای و تغییر رنگ در ناحیه آوندی را مشاهده کرد (شکل ۱).



شکل ۱. نشانه‌های بیماری مرگ هلندی نارون. A,B: سرخشیدگی و مرگ درختان نارون؛ C: نشانه برگ پرچمی (خشکیدگی شاخه‌ها)؛ D: گرفتگی آوندی در برش عرضی شاخه‌ها (اصلی).

Figure 1. Symptoms of Dutch elm disease, A-B: dieback and death of elm trees; C: flag leaf symptoms (death of branches); D: vascular obstruction (Original).

قارچ‌های عامل پژمردگی به سه طریق عمده وارد گیاه می‌شوند: ۱) از طریق زخم ایجاد شده توسط حشرات ناقل بر روی تنه و شاخه‌ها، ۲) از طریق زخم‌های ایجاد شده در ناحیه ریشه یا طوقه، ۳) از طریق پیوند ریشه‌ای یا جوش خوردن ریشه‌های درختان مجاور. انتقال با ناقل و پیوند ریشه‌ای مهم‌ترین راه‌های انتقال عامل مرگ هلندی نارون می‌باشند. پیوند ریشه‌ای بین ریشه‌های دو درخت مجاور مؤثرترین راه برای انتقال عامل بیماری بوده و با توجه به کشت ردیفی نارون در کنار خیابان و پارک‌ها و در مجاورت یکدیگر، نقش عمده‌ای در انتقال عامل این بیماری در فضاهای سبز شهری دارد. در این روش، مایه تلقیح به‌صورت مستقیم وارد میزبان شده و توسط جریان شیره آوندی انتقال یافته و باعث بروز بیماری در کل درخت می‌شود (Stipes and Campana 1981). از جمله ناقلین مهم در اروپا و آسیا گونه‌های *Scolytus scolytus* Fabricius (1775)، *S. multistriatus* marsham (1802)، *S. pygmaeus* Fabricius (1787) و *S. triarmatus* Eggers (1912) هستند. گونه‌های *S. laevis* Chapuis (1873)، *S. kirschi* Skalitzky (1999)، *S. mali* Bechstein and Scharfenberg (1805)، *Pteleobius vittatus* Fabricius و *S. ensifer* Eichhoff (1881) و *S. orientalis* Eggers (1910) (1792) به عنوان ناقل از اهمیت کمتری در این مناطق برخوردار هستند (Santini and Faccoli 2015). سوسک‌های پوست‌خوار وارد قسمت زیر پوست تنه و شاخه‌های اصلی می‌شوند. حین تغذیه از میزبان سالم، هاگ‌های عامل بیماری منتقل می‌شوند (شکل ۲). سوسک بالغ پس از سوراخ کردن پوست، در قسمت زیر پوست و بافت آوندی، دالان‌های تخم‌ریزی ایجاد می‌کنند و لاروها پس از تفریخ از تخم، دالان‌های لاروی را در راستای عمود بر دالان تخم‌ریزی ایجاد می‌کنند (Faccoli 2001). گونه *S. multistriatus* به‌صورت لارو در زیر پوست



شکل ۲. خسارت سوسک‌های پوست‌خوار ناقل بیماری مرگ هلندی نارون (اصلی).

Figure 2. Damage of bark beetles, vector of the causal agent of Dutch elm disease (Original).

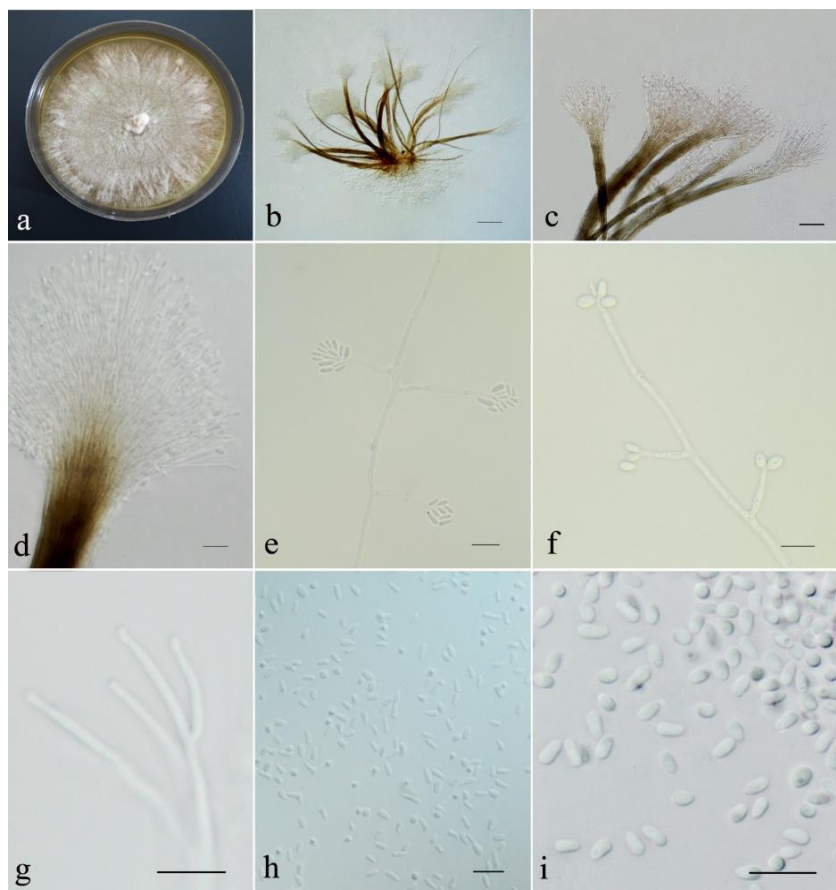
زمستان‌گذرانی می‌کند و سوسک بالغ جدید در بهار یا اوایل تابستان، هنگام کامل شدن برگ‌های درخت نارون مشاهده می‌شوند. اسپورها به عنوان عامل آلودگی در سطح بدن ناقل منتقل می‌شوند. پس از انتقال عامل توسط ناقل به میزبان جدید، عامل بیماری به صورت مخمری در میزبان منتقل شده و میزبان در مقابل، اقدام به ترشح ترکیباتی نظیر تیلوزها نموده و آوندهای آلوده را مسدود می‌نمایند که در نهایت، باعث بروز پژمردگی می‌شود. این عمل به دلیل انسداد سیستم آوندی پس از تولید تیلوز و توکسین در آوندهای چوبی رخ می‌دهد (Phillips and Burdekin 1982). چندین ترکیب با خاصیت گیاه‌سوزی از محیط‌های کشت مایع قارچ عامل بیماری جدا و خالص‌سازی شده‌اند که می‌توان آن‌ها را به چهار گروه دسته‌بندی کرد: ترکیبات فنلی، پلی‌ساکاریدها، گلیکوپپتیدها و پروتئینی به نام Cerato ulmin که در واقع مهم‌ترین نقش را در این بین داراست. این پروتئین که نوعی توکسین است، در جدایه‌های مهاجم به مقدار بیشتری از جدایه‌های غیرتهاجمی تولید می‌شود و با دخالت در انتقال آب، باعث ایجاد تنش آبی در میزبان می‌شود. این توکسین همچنین باعث ایجاد پوشش در اطراف اسپورهای عامل بیماری حین انتقال توسط سوسک پوست‌خوار و در نهایت محافظت از آن در شرایط نامساعد می‌شود (Temple et al. 1997).

۲- ریخت شناختی بیمارگر

پرگنه قارچ *O. novo-ulmi* روی محیط کشت MEA به رنگ سفید تا کرمی است و با گذشت زمان، رنگ پرگنه به تیرگی می‌گراید. آسکوکارپ از نوع پریتسیوم است. پریتسیوم در آنها دارای گردن بلندی است و در قسمت دهانه دارای ریشه‌های حاشیه‌ای است. آسک‌ها مخروطی، کروی، نیمه کروی و یا دوکی شکل هستند و به‌طور نامنظم بالغ می‌شوند. یک توده لعابی هاگ (Spore drop) روی دهانه آسکوکارپ تولید می‌شود. آسکوسپورها بی‌رنگ و معمولاً تک سلولی (گاهی دو سلولی) و دارای اشکال گوناگون هستند (Repe and Jurc 2010). کنیدیوم‌برهایی با کم‌ترین تمایز یافتگی، کنیدیوم‌ها هولوبلاستیک، بی‌رنگ یا کم‌رنگ دارد و محل تجمع کنیدیوم‌ها در انتهای کنیدیوم‌بر که محل جدا شدن کنیدیوم است به‌صورت دندان‌مانند مشاهده می‌گردد. برخی از گونه‌های آن تولید کنیدیوم‌برهای سینماتایی می‌کنند. فرم سینماتادار این گونه روی محیط کشت به صورت تکی یا مجتمع روی ریزوئیدهای تیره تشکیل می‌شود (شکل ۳).

۳- زیست‌شناسی بیمارگر

این قارچ دارای ریشه‌های هاپلوئید و هتروتال بوده و دارای دو نوع تیپ آمیزشی به نام‌های A و B می‌باشد. نسبت فراوانی تیپ‌های آمیزشی در طبیعت نیز در بین گونه‌ها و زیرگونه‌ها متفاوت می‌باشد (Brasier and Kirk 2001). این گروه دارای تنوع غیرجنسی حتی در داخل یک گونه هستند. جایگزینی گونه کم‌آزار *O. ulmi* با گونه *O. novo-ulmi* در مناطق مختلف دنیا گزارش شده است که این باعث ایجاد جریان ژنی بین این دو گونه و تشکیل هیبریدهای بین گونه‌ای می‌شود. گونه‌های *Ophiostoma* دارای تحمل زیادی در برابر غلظت بالای آنتی‌بیوتیک سیکلوهاگزامید هستند و بر اساس حضور سلولز، رامنوز و کتین در دیواره سلولی تشخیص داده می‌شوند (Hafez and Hausner 2011).



شکل ۳- *Ophiostoma novo-ulmi*: a: پرگنه، b-d: سینماتا، e و f: کنیدیوم و کنیدیوم‌برها g: سلول‌های کنیدیوم‌زایی فرم سینماتا، i و h: کنیدیوم‌های فرم سینماتا (مقیاس b و c = ۱۰۰ میکرومتر، d-i = ۱۰ میکرومتر) (اصلی).

Figure 3: a-Colony; b-d: Synnema; e-f: Conidia and Conidiophores; g: Synnema conidiogenous cell; i-h: conidia. (Bars b-c:100 μ m. Bars other 10 μ m). (Original).

۴- روش شناسایی عامل بیماری

تفکیک این گونه‌ها از همدیگر بر مبنای ترکیبی از خصوصیات ریخت‌شناختی ساختارهای جنسی و غیرجنسی و ویژگی‌های ماکروسکوپی شامل شکل پرگنه و نرخ رشد پرگنه در دماهای بهینه امکان‌پذیر می‌باشد. با این وجود مرحله جنسی این گونه‌ها در اغلب موارد تشکیل نمی‌شود و شناسایی با اتکا به داده‌های ریخت‌شناختی مشکل می‌باشد. دو گونه *O. novo-ulmi* و *O. ulmi* از نظر دمای بهینه برای رشد، شکل پرگنه، قدرت بیماری‌زایی در نارون و اطلاعات حاصل از انگشت‌نگاری ژنتیکی (RFLP) با هم تفاوت دارند. گونه *O. ulmi* در دمای ۳۰ °C قادر به رشد است و روی محیط به صورت صاف و چمنی و نزدیک به سطح رشد می‌کند و از لحاظ ظاهری شبیه مخمرها است. در مقابل گونه *O. novo-ulmi* قادر به رشد در دمای ۳۰ °C نیست و نسبت به گونه قبلی رشد سریعتری دارد و در محیط حلقه‌های متحدالمرکز با حاشیه‌های ناصاف تشکیل می‌دهد. علی‌رغم ویژگی‌های

ریخت‌شناسی متعددی که این دو گونه را از هم متمایز می‌کند شناسایی آن‌ها تنها با اتکا بر داده‌های ریخت‌شناسی مشکل است. به این خاطر در تحقیقات قبلی تلاش شده که شناسایی دوگونه اصلی دخیل در بیماری مرگ هلندی نارون با استفاده از روش‌های مولکولی صورت پذیرد. در مطالعات قبلی طراحی آغازگر اختصاصی مبتنی بر ژن کدکننده سراتوولمین جهت تفکیک دو گونه *O. ulmi* و *O. novo-ulmi* استفاده شده است. با این وجود این آغازگرها از کارایی لازم برای تشخیص دو گونه برخوردار نبوده‌اند. برای شناسایی مولکولی دو گونه *O. ulmi* و *O. novo-ulmi* از آغازگر اختصاصی Mtsr2 (CGAGTGGTTAGTACCAATCC) و Mtsr1 (AGTGGTGTACAGGTGAG) که بر اساس توالی اینترون موجود در زیر واحد کوچک ار ان ای ریبوزومی میتوکندریایی طراحی شده است استفاده می‌کنند. این جفت آغازگر قطعه‌ای به طول ۱۲۰۰ جفت باز را از جدایه‌های گونه *O. novo-ulmi* و قطعه‌ای به طول ۳۰۰۰ از جدایه‌های گونه *O. ulmi* طی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز تکثیر می‌کنند (Hafez and Hausner 2011)

۵-مدیریت بیماری

از آنجایی که نهال‌های نارون ممکن است دارای آلودگی پنهان باشند، رعایت قرنطینه می‌تواند از انتشار زیاد این بیماری از گلخانه‌های آلوده به دیگر مناطق جلوگیری کند. گرچه انتقال عامل توسط بذر مشاهده نشده، اما ورود بذر نارون به برخی کشورها از جمله هند ممنوع می‌باشد. چوب و فراورده‌های چوبی نارون در انتقال و انتشار عامل بیماری می‌تواند موثر باشد، برای اطمینان از عاری شدن چوب نارون از عامل بیماری می‌توان از خشک کردن با کوره، ضدعفونی با گاز اتیل بروماید زیر نظر کارشناسان مربوطه و سایر روش‌ها بهره برد. رعایت بهداشت زراعی مهم‌ترین روش کنترلی این بیماری است (Stipes 2000). رعایت بهداشت در مورد بیمارگر و ناقل به‌کار می‌رود و موجب کاهش چشمگیری در آلودگی‌های ایجاد شده توسط این دو می‌شود اما ریشه‌کنی کامل آن‌ها جز با سوزاندن هر شاخه یا تنه آلوده به ناقل یا دارای نشانه بیماری انجام نمی‌پذیرد. برای مهار بیماری، هرس و جداسازی شاخه‌های آلوده امری ضروری می‌باشد. ضدعفونی کردن لوازم هرس مهم در رعایت بهداشت زراعی می‌باشد. در مایه‌زنی میزبان توسط هاگ‌های جدایه هیپوویرولانت *O. ulmi* باعث ایجاد مقاومت نسبت به بیماری مرگ هلندی گردیده است (Scheffer and Elgersma 1982). این روش مهارزیستی به‌طور گسترده در کشورهای هلند و آمریکا کاربرد دارد (Voeten 2003). باکتری *Pseudomonas syringae* که یک عامل غیربیماری‌زا برای میزبان نارون به‌شمار می‌رود، به‌عنوان عامل بازدارنده رشد *O. novo-ulmi* و *U. americana* گزارش گردیده است (Strobel et al. 2002). تلقیح درختان نارون با *P. syringae* قبل از آلودگی درخت با *O. novo-ulmi* موجب القا مقاومت نسبت به بیماری می‌شود (Scheffer 1983). یافته مشابهی برای باکتری *P. fluorescens* نیز گزارش شده است (Murdoch and Campana 1983)، گرچه امروزه کاربرد این باکتری، روش مهار زیستی مؤثری به‌شمار نمی‌رود (Stipes 2000). همچنین باکتری *Bacillus subtilis* یک عامل مهار *O. novo ulmi* است که سازوکار تأثیر آن به صورت اثر ترشح‌های مایع خارج سلولی و ترکیب‌های فرار ظاهر می‌شود. ویروس‌های قارچی نیز اثر کاهنده چشمگیری بر رشد گونه *O. novo-ulmi* دارند و آلودگی به ویروس به عنوان عامل انتخاب طبیعی در جمعیت قارچی محسوب می‌شود (Brasier 1986). تولید رقم‌های مقاوم در

برابر بیمارگر نیز روشی است که در کشورهای هلند و امریکا صورت پذیرفته است که می‌توان به ارقام *U. japonica*, *U. villosa* Brandis, *U. wallichiana* Planch, *U. parvifolia* Jacq, *U. pumila* L, *U. wilsoniana* Schneid, Sarg اشاره کرد (Jürisoo et al. 2019, Smalley and Guries 1993). روش‌های مبارزه شیمیایی مختلف و حدود ۶۰۰ ترکیب شیمیایی از سال ۱۹۳۰ برای مدیریت بیماری آزمایش گردیده‌اند. مواد شیمیایی به یکی از دو روش تزریق در آوند و یا استفاده در خاک، به کار می‌روند. شش نوع دارو با فرمولاسیون‌های مختلف در ایالات متحده آمریکا برای تزریق به نارون به ثبت رسیده است. این ترکیبها عبارتند از کاربندازیم، تیابندازول و دباکارب از دسته دارویی بنزیمیدازول‌ها (Benzimidazoles) پروپیکونازول و تبوکونازول از تری‌آزول‌ها (Trazoles) و سم مسی (Copper Sulphate Pentahydrate) (Stipes 2000).

نتیجه‌گیری

بیماری پژمردگی هلندی نارون در حال حاضر پراکنش جهانی دارد. حداقل سه گونه *Ophiostoma* از جمله *O. ulmi*, *O. novo-ulmi* و *O. himal-ulmi* عامل بیماری هستند که از نظر پراکنش جغرافیایی و قدرت تهاجم با هم تفاوت دارند. بیماری در ایران از جنگلهای استانهای گیلان، مازندران و گلستان، روی درختان نارون، ملج و اوجا، ناشی از دو گونه *O. ulmi* و *O. nov-ulmi* گزارش شده است. جدایه‌های *O. novo-ulmi* دارای قدرت بیماری‌زایی بیشتری نسبت به جدایه‌های *O. ulmi* می‌باشند. مدیریت بیماری با روش‌های پیشگیری و قرنطینه، اقدامهای بهداشتی، کاشت رقم‌های مقاوم و استفاده از سم‌های شیمیایی جذبی مانند کاربندازیم، تیابندازول، پروپیکونازول و تبوکونازول در زمان مشاهده اولین نشانه‌های بیماری امکان‌پذیر است.

References

منابع

1. Afsharpour F, Adeli E (1974) Dutch elm disease *Ceratocystis ulmi* (Buisman) C. moreau in Iran. Research Institute of Forests and Rangelands. Technical Publications. 27p.
2. Brasier CM (1986) Dutch elm disease-*Ophiostoma* (*Ceratocystis*) *ulmi* The emergence of EAN and NAN hybrids in Europe. Report on Forest Research 37p.
3. Brasier CM and Kirk SA (2001) Designation of the EAN and NAN races of *Ophiostoma novo-ulmi* as subspecies. Mycological Research 105:547-554.
4. Duchesne LC (1993) Mechanisms Of Resistance: Can They Help Save Susceptible Elms In Dutch Elm Disease Research. Springer, New York, NY. 239-254
5. Faccoli M (2001) Elm bark beetles and Dutch elm disease: tests of combined control. Anzeiger für Schädlingskunde. Journal of Pest Science 74:22-29.
6. Hafez M, Hausner G (2011) The highly variable mitochondrial small-subunit ribosomal RNA gene of *Ophiostoma minus*. Fungal Biology 115:1122-1137.
7. Jürisoo L, Adamson K, Padari A, Drenkhan R (2019) Health of elms and Dutch elm disease in Estonia. European Journal of Plant Pathology 154:823-41.

8. Murdoch CW, Campana RJ (1983) Bacterial species associated with wet wood of elm. *Phytopathology*, 73:1270-1273.
9. Phillips DH, Burdekin DA (1982) Diseases of elm (*Ulmus* spp.). pp. 259-275. In: *Diseases of Forest and Ornamental Trees*. Palgrave Macmillan, London.
10. Rahnama K, Taheri, AH (2004) Distribution of Dutch elm disease pathogens, aggressive and non-aggressive isolates in Iran. *Canadian Journal of Plant Pathology* 26:121-126.
11. Repe A, Jurc M. (2010) Ophiostomatoid fungi (Ascomycota: Ophiostomataceae) associated with bark beetles and their possible economic impact in forests and timber production. *Zbornik Gozdarstva in Lesarstva* 91:3-12.
12. Santini A, Faccoli, M (2015) Dutch elm disease and elm bark beetles: a century of association. *iForest-Biogeosciences and Forestry* 8:126.
13. Scheffer RJ (1983) Biological control of Dutch elm disease by *Pseudomonas* species. *Annals of Applied Biology* 103:21-30.
14. Scheffer RJ and Elgersma DM (1982) A scanning electron microscope study of cell wall degradation in elm wood by aggressive and non-aggressive isolates of *Ophiostoma ulmi*. *European Journal of Forest Pathology* 12:25-28.
15. Scheffer RJ, Voeten JG and Guries RP (2008) Biological control of Dutch elm disease. *Plant Disease* 92:192-200.
16. Sinclair WA, Lyon HH and Johnson WT (1987) *Diseases of trees and shrubs*. Cornell University Press: Ithaca, NY.
17. Smalley EB and Guries RP (1993) Breeding elms for resistance to Dutch elm disease. *Annual Review of Phytopathology* 3:325-354.
18. Stipes RJ and Campana RJ (1981) *Compendium of elm diseases*. The American Phytopathological Society. Saint Paul, Minnesota.
19. Stipes RJ (2000) The Management of Dutch elm disease. Pp.157-172. In: Dunn CP, *The elms - Breeding, Conservation and Disease Management*. Boston, USA: Kluwer Academic Publishers.
20. Strobel G, Ford E, Worapong J, Harper JK, Arif AM, Grant DM, Fung PC, Chau MW (2002) Isopestacin, an isobenzofuranone from *Pestalotiopsis microspora*, possessing antifungal and antioxidant activities. *Phytochemistry* 60:179-183.
21. Temple B, Horgen PA, Bernier L, Hintz WE (1997) Cerato-ulmin, a hydrophobin secreted by the causal agents of Dutch elm disease, is a parasitic fitness factor. *Fungal Genetics and Biology* 22:39-53.
22. Tubby KV, Webber JF (2010) Pests and diseases threatening urban trees under a changing climate. *Forestry* 83:451-459.
23. Voeten J (2003) Dutch trig®: a decade of successful biological control of dutch elm disease in Europe and the USA. In *Elm Conference Abstracts*, p.35.



Extensional Article

Application of seaweeds in plant disease management

ALI ASGHAR DEHGHAN, REZA GHADERI✉

Department of Plant Protection, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 02.01.2020

Accepted: 02.03.2020

Dehghan AA, Ghaderi R (2020) Application of seaweeds in plant diseases management. Plant Pathology Science 9(1):101-107. DOI: 10.2982/PPS.9.1.101.

Abstract

Algae are the most important plant growth stimulants due to their high content of minerals, amino acids, vitamins and growth regulators such as auxin, cytokinin and gibberellin. Use of these stimuli in crops can improve rooting, yield, photosynthetic capacity and their resistance to pathogens. Application of algae (mainly seaweeds) against various plant diseases including bacterial, fungal, viral and nematode diseases as well as pests has been proven. Seaweeds are used as a powder or extract mixed with soil, or foliar spray to control of plant diseases. They are usually involved in controlling plant pathogens by inducing plant resistance, antagonistic activity by induced activity of other microorganisms, and enhancing plant growth. In general, seaweeds can be applied as biofertilizers, biostimulators and soil amendments in integrated plant diseases management programs.

Key words: Disease, Macroalgae, *Enteromorpha*, *Xanthomonas*, *Meloidogyne*

✉ rghaderi@shirazu.ac.ir

مقاله ترویجی

کاربرد جلبک‌های دریایی در مدیریت بیماری‌های گیاهی

علی اصغر دهقان، رضا قادری✉

بخش گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۱۲

دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۱۲

دهقان ع ا، قادری ر (۱۳۹۸) کاربرد جلبک‌های دریایی در مدیریت بیماری‌های گیاهی. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۹(۱): ۱۰۷-۱۰۱. DOI: 10.2982/PPS.9.1.101.

چکیده

جلبک‌های دریایی به دلیل دارا بودن مقادیر زیادی از مواد معدنی، اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد همانند اکسین، سیتوکینین و جیبرلین از مهم‌ترین محرک‌های رشد گیاهان محسوب می‌شوند. استفاده از این محرک‌ها در گیاهان زراعی موجب افزایش ریشه‌زایی، بهبود عملکرد، افزایش فعالیت فتوسنتزی و مقاومت در برابر بیمارگرها می‌شود. کاربرد جلبک‌های دریایی بر علیه بیماری‌های مختلف گیاهی شامل بیماری‌های باکتریایی، قارچی، ویروسی و نماتدی و همچنین آفت‌ها به اثبات رسیده است. این جلبک‌ها به صورت پودر مخلوط با خاک، عصاره و یا محلول‌پاشی برگ برای مبارزه با بیماری‌های گیاهی استفاده می‌شوند. جلبک‌های دریایی معمولاً از طریق القای مقاومت در گیاه، خاصیت تعارضی به واسطه افزایش فعالیت ریزجانداران دیگر و افزایش رشد گیاه، در مدیریت بیمارگرهای گیاهی نقش دارند. به طور کلی، در برنامه‌های مدیریت تلفیقی بیماری‌ها، جلبک‌های دریایی قابلیت کاربرد به عنوان میکرب‌کش، کود زیستی، محرک زیستی و تقویت‌کننده خاک را دارا هستند.

واژگان کلیدی: بیماری، *Meloidogyne*، *Xanthomonas*، *Enteromorpha*، *Macroalgae*

مقدمه

مدیریت بیمارگرهای گیاهی به‌ویژه بیمارگرهای خاکزاد از جمله نماتدهای انگل گیاهی به دلیل پیچیده بودن فرآیند آن به طور فزاینده‌ای به استفاده از سموم شیمیایی وابسته بوده است (Baloch et al. 2013). از طرف دیگر در سال‌های اخیر به دلیل بروز برخی مشکلات از قبیل اثرات مخرب زیست محیطی، باقیمانده سموم در محصولات کشاورزی و بروز مقاومت، پژوهش‌های زیادی برای یافتن روش‌های جایگزین و متناسب با کشاورزی پایدار صورت گرفته است (Ngala et al. 2016). یکی از روش‌های مؤثر و ایمن در کنترل بیمارگرهای گیاهی، استفاده از جلبک‌ها و به‌ویژه جلبک‌های دریایی می‌باشد. این جلبک‌ها انواع متابولیت‌های ثانویه از قبیل فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، ساپونین‌ها، فنول‌ها، ترپنوئیدها و تانن‌ها را دارا هستند (Hamouda and El-Ansary 2013). تاکنون بیشتر مطالعه‌های صورت گرفته در رابطه با کاربرد جلبک‌ها در زمینه‌های پزشکی بوده و البته در حوزه کشاورزی نیز بسیار امیدبخش بوده و به تدریج مورد توجه قرار گرفته‌اند.

✉ rgghaderi@shirazu.ac.ir

پژوهش‌های بسیاری نشان می‌دهد که جلبک‌های دریایی قادرند در کشاورزی ارگانیک در نقش روشی سازگار با محیط زیست و جایگزین سموم شیمیایی عمل نمایند (Hamed et al. 2018).

۱- پراکنش و زیستگاه جلبک‌ها

جلبک‌ها جان‌داران شبه گیاه هستند که ساختمان درونی ساده‌ای داشته و معمولاً در مناطق ساحلی یافت می‌شوند. به طور کلی جلبک‌ها به دو گروه ریزجلبک‌ها (Microalgae) و درشت‌جلبک‌ها یا جلبک‌های دریایی (Macroalgae or seaweeds) تقسیم می‌شوند. گروه دوم خود شامل انواع جلبک‌های سبز (Chlorophyta)، قهوه‌ای (Phaeophyta)، قرمز (Rhodophyta)، طلایی (Chrysophyta) و سبز-آبی (Cyanophyta) است (Hamed et al. 2018, Sohrabipour and Rabiei 2017). جلبک‌های دریایی به عنوان تولیدکنندگان اصلی اکوسیستم‌های آبی در دریاها و اقیانوس‌ها که ۷۱ درصد سطح زمین را در برمی‌گیرند از اهمیت بالایی در محیط زیست برخوردار هستند. سواحل جنوبی ایران با داشتن مرزهای گسترده با آب‌های خلیج فارس و دریای عمان از ظرفیت زیستی ارزشمندی از جمله جلبک‌های دریایی برخوردار است. با بررسی‌های صورت گرفته در سال‌های اخیر، بالغ بر ۳۴۷ گونه از انواع جلبک‌ها در سواحل دریایی جنوب کشور شناسایی شده که شامل ۱۶۷ گونه جلبک قرمز، ۷۹ گونه جلبک سبز، ۸۰ گونه جلبک قهوه‌ای، ۱۵ گونه جلبک سبز-آبی و شش گونه دیاتومه است (Sohrabipour and Rabiei 2017).

۲- اهمیت جلبک‌های دریایی در کشاورزی

جلبک‌های دریایی به دلیل دارا بودن مقادیر زیادی از مواد معدنی، اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها و تنظیم کننده‌های رشد همانند اکسین، سیتوکینین و جیبرلین از مهم‌ترین محرک‌های رشد گیاهان محسوب می‌شوند (Senn 1987). استفاده از این محرک‌ها در گیاهان زراعی موجب افزایش ریشه‌زایی، بهبود عملکرد، افزایش فعالیت فتوسنتزی و مقاومت در برابر بیمارگرهای مختلف از جمله قارچ‌ها، باکتری‌ها و ویروس‌ها می‌شود (Sharma et al. 2014). به علاوه این ترکیبات باعث افزایش قابلیت جذب مواد غذایی، ظرفیت نگهداری آب، آنتی‌اکسیدان‌ها، متابولیسم و تولید کلروفیل در گیاهان می‌شوند (Khan et al. 2009).

۳- اهمیت جلبک‌های دریایی در مدیریت بیماری‌های گیاهی

کاربرد مؤثر جلبک‌های دریایی و عصاره‌های آنها بر علیه بیماری‌های مختلف گیاهی تاکنون شامل بیماری‌های باکتریایی، قارچی، ویروسی و نماتدی و همچنین آفات به اثبات رسیده است. این جلبک‌ها به صورت پودر مخلوط با خاک، عصاره و یا محلول‌پاشی برگ برای کنترل بیماری‌های گیاهی استفاده می‌شوند (Paracer et al. 1987, Hamed et al. 2018). جلبک‌های دریایی و عصاره‌های آنها به خودی خود سطح قابل قبولی از کنترل را فراهم نمی‌آورند، بلکه معمولاً از طریق القای مقاومت در گیاه، خاصیت تعارضی به واسطه افزایش فعالیت ریزجانداران دیگر و افزایش رشد گیاه، در مدیریت بیمارگرهای گیاهی نقش دارند (Wu et al. 1998).

۳-۱- تاثیر جلبک‌های دریایی بر بیماری‌های باکتریایی

خاصیت ضدباکتریایی جلبک‌های دریایی عمدتاً به دلیل وجود گروه‌های مختلف اسیدهای چرب زیست‌فعال می‌باشد (Ibraheem et al. 2017). خاصیت ضدباکتریایی اسیدهای چرب غالب (اسیدهای پالمتیک) جدا شده از جلبک سبز *Enteromorpha flexuosa* علیه باکتری بیماریزای گیاهی *Xanthomonas oryzae*

pv. *oryzae* عامل سوختگی نواری برنج ثابت شده است (Kumar et al. 2008). عصاره استونی و اتانولی حاصل از گونه‌های مختلف جلبک‌های قهوه‌ای روی طیف وسیعی از باکتری‌های بیمارگر گیاهی مانند *Pectobacterium carotovorum* و *Pseudomonas syringae* و همچنین باکتری بیماری‌زای انسانی *Escherichia coli* مؤثر بوده است (Kumar et al. 2008, Borbón et al. 2012).

۳-۲- تاثیر جلبک‌های دریایی بر بیماری‌های قارچی

نقش جلبک‌های دریایی در محافظت از گیاهان در برابر طیف وسیعی از بیمارگرهای قارچی به اثبات رسیده است (Hamed et al. 2018). ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها، پلی‌ساکاریدها و کربوهیدرات‌های ذخیره‌ای از جمله مانیتول و مانوز جلبک‌ها نقش مهمی در ذخیره‌سازی کربن و انرژی، تنظیم کوانتیم‌ها، تنظیم فشار اسمزی و افزایش مقاومت کلی گیاه در برابر قارچ‌ها دارند (Hernandez-Herrera et al. 2014a, 2014b). همچنین جلبک‌ها با القای مسیرهای دفاعی گیاه از جمله اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک در مقاومت گیاه علیه بیماری‌های قارچی نقش دارند (Ramkissoon et al. 2017). به طور مثال القای مقاومت گیاه انگور توسط جلبک‌ها در برابر بیماری‌های کپک خاکستری و سفیدک کرکی نشان داده شده است (Aziz et al. 2003). علاوه بر این جلبک‌ها می‌توانند در سرکوب مستقیم طیف وسیعی از بیمارگرهای قارچی دخیل باشند (Galal et al. 2011, Baloch et al. 2013).

۳-۳- تاثیر جلبک‌های دریایی بر بیماری‌های ویروسی

بسیاری از ترکیبات ضدویروسی شامل پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها، آلکالوئیدها، فلاونوئیدها و پلی‌فنول‌ها در جلبک‌ها کشف شده است (Zhao et al. 2017). پلی‌ساکاریدها به‌ویژه پلی‌ساکاریدهای سولفاته حاصل از جلبک‌های قهوه‌ای با مسدود کردن جذب ویروس ایکس سیب‌زمینی توسط غشای سلولی نقش به‌سزایی در کاهش آلودگی سیب‌زمینی به این ویروس دارند. گفته می‌شود که این ترکیبات با اشغال کردن گیرنده‌های ویروس در سطح سلول، مانع از اتصال ویروس به میزبان و جذب آن می‌گردند (Feldman et al. 1999, Pardee et al. 2004). در خصوص جلبک‌های قرمز دریایی، کاپا/بتا کارائینان‌های استخراج شده از *Tichocarpus crinitus* باعث سرکوب ویروس موازییک توتون (TMV) در توتون شده است (Nagorskaia et al. 2008).

۳-۴- کاربرد جلبک‌های دریایی در مدیریت نماتدهای انگل گیاهی

جلبک‌های دریایی در حکم منابع مهم نماتدکش مطرح هستند (Hamed et al. 2018) و بیشتر بررسی‌های صورت گرفته در مورد تاثیر آنها بر نماتدهای غده ریشه بوده است. سمیت جلبک‌های دریایی برای این نماتدها تا حدودی برابر با سمیت نماتدکش کاربوفوران در شرایط گلخانه و مزرعه بوده است (Sultana et al. 2012). سیتوکنین‌ها، ۱-آمینوسیلیکوپروپان-۱-اسید کربوکسیلیک و پیش‌سازهای بیوسنتز اتیلن در جلبک‌های دریایی وجود دارند و می‌توانند مقاومت گیاهان نسبت به نماتدهای غده ریشه را بهبود بخشند. اصلاح خاک توسط جلبک قهوه‌ای *Spatoglossum schroederi* در غلظت‌های ۰/۵ و یک درصد به طور قابل توجهی سبب کاهش آلودگی ریشه گوجه‌فرنگی به نماتدهای *Meloidogyne incognita* و *M. javanica* می‌شود (Paracer et al. 1987). مایه‌زنی خاک با محرک‌های زیستی از جمله جلبک‌های دریایی توانسته است نفوذ، تهاجم و دوام لاروهای سن دوم نماتدهای *M. javanica* و

M. incognita را در گوجه‌فرنگی کاهش دهد (Wu et al. 1998). مخلوط کردن خاک با پودر حاصل از جلبک‌های دریایی *Spatoglossum variabile*، *Polycladia indica* و *Melanothamnus* به طور قابل ملاحظه‌ای آلودگی گیاه هندوانه و بادنجان را به *M. incognita* کاهش می‌دهد (Baloch et al. 2013). عصاره‌های دو جلبک قهوه‌ای *Ascophyllum nodosum* و *Ecklonia maxima* روی نماتدهای *M. chitwoodi* و *M. hapla* نشان داد که در معرض قرار گرفتن کیسه‌های ژلاتینی تخم این نماتدها در عصاره‌های قلیایی ۵۰ و ۱۰۰ درصدی حاصل از این جلبک‌ها به طور معنی‌داری درصد تفریخ نهایی تخم‌های آن‌ها را کاهش می‌دهد. به علاوه لاروهای سن دوم این نماتدها تمایل کمتری به تغذیه از ریشه‌های گوجه‌فرنگی آغشته به *A. nodosum* داشتند (Ngala et al. 2016). جلبک‌های سبز-آبی *Anabaena oryzae* و *Scenedesmus obliquus* طیف گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه از جمله پپتیدها، آلکالوئیدها، استامید، هگزامتیل، اکسیم متوکسی فنیل، فنول‌ها و دیگر ترکیبات را رهاسازی می‌کنند که برای نماتدهای غده ریشه سمی هستند (Hamouda and El-Ansary 2013).

بررسی‌های دیگری نیز در مورد تأثیر جلبک‌های دریایی بر سایر نماتدهای انگل گیاهی صورت گرفته است. در پژوهشی مشخص شد که مخلوط کردن یک گرم پودر جلبک سبز *Chlorella vulgaris* با خاک گلدان، اثر تحریک‌کننده قوی بر افزایش رشد قلمه‌های انگور دارد و همچنین دارای اثر مهارکننده روی نماتد انگل سطحی *Xiphinema index* است (Bileva 2013). در پژوهشی دیگر نشان داده شد که عصاره آلکالوئیدی جلبک قهوه‌ای *A. nodosum* می‌تواند موجب کاهش معنی‌دار تعداد نماتدها و افزایش وزن نهال‌های مرکبات آلوده به نماتد *Radopholus similis* در مقایسه با نهالهای شاهد شود (Radwan et al. 2012). همچنین *A. nodosum* به طور مؤثر موجب کاهش جمعیت نماتد *Belonolaimus longicaudatus* در چمن پس از گذشت یک ماه گردید (Morgan and Tarjan 1980) و عصاره غلیظ جلبک قهوه‌ای *Ecklonia maxima* موجب کاهش تولیدمثل نماتد *Pratylenchus zae* روی ریشه ذرت شده است (De Waele and Jordaan 1988).

نتیجه‌گیری

جلبک‌ها، به‌ویژه جلبک‌های دریایی منابع زیستی بسیار مهمی در ابعاد مختلف زمینه‌های کشاورزی محسوب می‌شوند. جلبک‌های دریایی با تولید مجموعه‌ای وسیع از ترکیبات زیستی فعال باعث از بین رفتن بسیاری از بیمارگرهای گیاهی می‌شوند. تأثیر جلبک‌های دریایی بر بیماری‌های گیاهی به‌واسطه القای مقاومت گیاه، خاصیت تعارضی ناشی از فعالیت سایر ریزجانداران و تأثیر مستقیم در رشد گیاه می‌باشد. همچنین این جلبک‌ها ممکن است موجب تحریک ریزجانداران مفید و متعارض بیمارگرها در خاک شوند و رشد آن‌ها بر میزان تجمع بیمارگرهای خاک‌زاد تأثیر بگذارد. به طور کلی، در برنامه‌های مدیریت تلفیقی بیماریه‌های گیاهی، جلبک‌های دریایی قابلیت کاربرد به عنوان میکرب‌کش، کود زیستی، محرک زیستی و تقویت‌کننده خاک را دارا هستند. بنابراین کاربرد جلبک‌های دریایی و مشتقات حاصل از آن‌ها، گامی مهم در راستای کشاورزی ارگانیک و پایدار محسوب می‌شود.

References

منابع

1. Aziz A, Poinssot B, Daire X, Adrian M, Bézier A, Lambert B, Pugin A (2003) Laminarin elicits defense responses in grapevine and induces protection against

- Botrytis cinerea* and *Plasmopara viticola*. Molecular Plant-Microbe Interactions 16:1118-1128.
2. Baloch GN, Tariq S, Ehteshamul-Haque S, Athar M, Sultana V , Ara J (2013) Management of root diseases of eggplant and watermelon with the application of asafetida and seaweeds. Journal of Applied Botany and Food Quality 86:138-142.
 3. Bileva T (2013) Influence of green algae *Chlorella vulgaris* on infested with *Xiphinema index* grape seedlings. Journal of Earth Science Climate Change 4:136-138.
 4. Borbón H, Herrera JM, Calvo M, Trimino H, Sierra L, Soto R , Vega I (2012) Antimicrobial activity of most abundant marine macroalgae of the Caribbean coast of Costa Rica. Journal of Asian Scientific Research 2:292-299.
 5. De Waele D, Jordaan EM (1988) Plant-parasitic nematodes on field crops in South Africa. 1. Maize. Revue de Nématologie 11:65-74.
 6. Feldman SC, Reynaldi S, Stortz CA, Cerezo AS , Damonte EB (1999) Antiviral properties of fucoidan fractions from *Leathesia difformis*. Phytomedicine 6:335-340.
 7. Galal HRM, Salem WM, Nasr El-Deen F (2011) Biological control of some pathogenic fungi using marine algae. Research Journal of Microbiology 6:645-57.
 8. Hamed SM, El-Rhman AAA, Abdel-Raouf N , Ibraheem IB (2018) Role of marine macroalgae in plant protection and improvement for sustainable agriculture technology. Journal of Basic and Applied Sciences 7:204-210.
 9. Hamouda RA, El-Ansary MSM (2013) Biocontrol of root knot nematode, *Meloidogyne incognita* infected banana plants by Cyanobacteria. Egyptian Journal of Agroentomology, 12:113-129.
 10. Hernandez-Herrera RM, Santacruz-Ruvalcaba F, Ruiz-López MA, Norrie J, Hernández-Carmona G (2014a) Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). Journal of Applied Phycology 26:619-628.
 11. Hernandez-Herrera RM, Virgen-Calleros G, Ruiz-López M, Zañudo-Hernández J, Délano-Frier JP, Sánchez-Hernández C (2014b) Extracts from green and brown seaweeds protect tomato (*Solanum lycopersicum*) against the necrotrophic fungus *Alternaria solani*. Journal of Applied Phycology 26:1607-1614.
 12. Ibraheem BMI, Abdel-Raouf N, Mohamed HM, Yehia R, Hamed SM (2017) Impact of the microbial suppression by using the brown alga *Dictyota dichotoma* extract. Egyptian Journal of Botany (The 7th International Conference on Plant and Microbial Biotechnology), 205-214.
 13. Khan W, Rayirath UP, Subramanian S, Jithesh MN, Rayorath P, Hodges DM, Prithiviraj B (2009) Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. Journal of Plant Growth Regulation 28:386-399.
 14. Kumar CS, Sarada DV , Rengasamy R (2008) Seaweed extracts control the leaf spot disease of the medicinal plant *Gymnema sylvestre*. Indian Journal of Science and Technology 1:1-5.

15. Morgan KT, Tarjan AC (1980) Management of sting nematode on centipede grass with kelp extracts. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 93:97-99.
16. Nagorskaia VP, Reunov AV, Lapshina LA, Ermak IM , Barabanova AO (2008) Influence of kappa/beta-carrageenan from red alga *Tichocarpus crinitus* on development of local infection induced by tobacco mosaic virus in Xanthi-nc tobacco leaves. *Izvestiia Akademii nauk Serii biologicheskaya* 3:360-364.
17. Ngala BM, Valdes Y, Dos Santos G, Perry RN , Wesemael WM (2016) Seaweed-based products from *Ecklonia maxima* and *Ascophyllum nodosum* as control agents for the root-knot nematodes *Meloidogyne chitwoodi* and *Meloidogyne hapla* on tomato plants. *Journal of Applied Phycology* 28:2073-2082.
18. Paracer S, Tarjan AC, Hodgson LM (1987) Effective use of marine algal products in the management of plant-parasitic nematodes. *Journal of Nematology* 19:194-200.
19. Pardee KI, Ellis P, Bouthillier M, Towers GH , French CJ (2004) Plant virus inhibitors from marine algae. *Canadian Journal of Botany* 82:304-309.
20. Radwan MA, Farrag SAA, Abu-Elamayem MM , Ahmed NS (2012) Biological control of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato using bioproducts of microbial origin. *Applied Soil Ecology* 56:58-62.
21. Ramkisson A, Ramsubhag A , Jayaraman J (2017) Phytoelicitor activity of three Caribbean seaweed species on suppression of pathogenic infections in tomato plants. *Journal of Applied Phycology* 29:3235-3244.
22. Sharma HS, Fleming C, Selby C, Rao JR, Martin T (2014) Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses. *Journal of Applied Phycology* 26:465-490.
23. Sohrabipour J, Rabiei R (2017) Algal vegetation in southern coastline of Iran. *Iran Nature* 2:62-68.
24. Sultana V, Baloch GN, Ara J, Ehteshamul-Haque S, Tariq RM , Athar M (2012) Seaweeds as an alternative to chemical pesticides for the management of root diseases of sunflower and tomato. *Journal of Applied Botany and Food Quality* 84:162.
25. Wu Y, Jenkins T, Blunden G, von Mende N, Hankins SD (1998) Suppression of fecundity of the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*, in monoxenic cultures of *Arabidopsis thaliana* treated with an alkaline extract of *Ascophyllum nodosum*. *Journal of Applied Phycology* 10:91.
26. Zhao L, Feng C, Wu K, Chen W, Chen Y, Hao X, Wu Y (2017) Advances and prospects in biogenic substances against plant virus: A review. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 135:15-26.



Extensional Article

The role of brassinosteroid hormones in plant response to pathogens

AMINALLAH TAHMASEBI^{1✉}, MOHAMAD HAMED GHODOUM PARIZIPOUR²

1- Department of Agriculture, Minab Higher Education Center,
University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran

2- Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources
University of Khuzestan, Mollasani, Iran

Received: 14.04.2020

Accepted: 10.08.2020

Tahmasebi A, GhodoumParizipour MH (2020) The role of brassinosteroid hormones in plant response to pathogens. Plant Pathology Science 9(1):108-117. DOI: 10.2982/PPS.9.1.108.

Abstract

Plants are usually attacked by several pathogens. Different defense pathways in plants have evolved in reaction to pathogens. Plant defense responses have been shown to be regulated by various plant hormones. Brassinosteroids are plant-specific steroid hormones that play important roles in regulating growth and developmental processes. In addition to acting as a regulator of plant growth, they also play a role in defense responses to pathogens. Many researches have been done on their role in plant resistance to fungi, bacteria and viruses, which are described in this article. Further understanding of the role of these hormones in plant defense responses can be useful in inducing resistance or producing plants resistant to pathogens.

Keywords: Induced resistance, *Phytophthora*, *Pseudomonas*, *Verticillium*

✉ Tahmasebi.info@yahoo.com

مقاله ترویجی

نقش هورمون‌های براسینواستروئیدی در واکنش گیاهان به بیمارگرها

امین‌الله طهماسبی[✉]، محمدحامد قدوم‌پاریزی‌پور^۲

۱- گروه کشاورزی، مجتمع آموزش عالی میناب، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس

۲- دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملائانی

پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۲۰

دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۲۶

طهماسبی ۱، قدوم‌پاریزی‌پور م ح (۱۳۹۸) نقش هورمون‌های براسینواستروئیدی در واکنش گیاهان به بیمارگرها.

DOI: 10.2982/PPS.9.1. 108.

دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۹(۱): ۱۱۷-۱۰۸.

چکیده

گیاهان به طور متداول مورد حمله بیمارگرهای مختلف قرار می‌گیرند. مسیرهای دفاعی مختلف در گیاهان در پاسخ به بیمارگرها، تکامل یافته‌اند. مشخص شده که پاسخ‌های دفاعی گیاه توسط هورمون‌های مختلف گیاهی تنظیم می‌شوند. براسینواستروئیدها هورمون‌های استروئیدی اختصاصی در گیاهان هستند که نقش‌های مهمی در تنظیم فرآیندهای رشد و نمو ایفا می‌کنند. آنها علاوه بر ایفای نقش به عنوان تنظیم کننده رشد گیاهان، در پاسخ‌های دفاعی به بیمارگرها نیز نقش دارند. پژوهش‌های زیادی در مورد نقش آنها در مقاومت گیاهان به قارچها، باکتریها و ویروسها شده است، که در این مقاله شرح داده شده‌اند. شناخت بیشتر نقش این هورمونها در پاسخهای دفاعی گیاهان می‌تواند در جهت القای مقاومت یا تولید گیاهان مقاوم به بیمارگرها، مفید واقع شود.

واژگان کلیدی: مقاومت القایی، *Verticillium*, *Pseudomonas*, *Phytophthora*

مقدمه

براسینواستروئیدها هورمون‌های گیاهی هستند که به طور گسترده‌ای در گیاهان با غلظت‌های پایین وجود دارند و از لحاظ ساختاری به استروئیدهای جانوری شباهت دارند (Li et al. 1996). اولین بار براسینواستروئیدها از دانه گرده گیاه کلزا (*Brassica napus* L.) استخراج و به عنوان ششمین گروه از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی معرفی شدند (Bajguz and Tretyn 2003). براسینواستروئیدها تقریباً در تمام قسمت‌های گیاهان یافت می‌شوند، اما بیشترین مقدار آنها در اندام‌های زایشی (دانه گرده و بذرها نارس) مشاهده شده است (Clouse and Sasse 1998). این ترکیبات موجب تحریک رشد و تقسیم سلولی می‌شوند و بر خصوصیات نفوذپذیری، پایداری و فعالیت آنزیم‌های غشا اثر می‌گذارند. هم چنین براسینواستروئیدها روی بیان ژن و سوخت و ساز پروتئینها اثر می‌گذارند (Khrupach et al. 1998). تاکنون ۶۵ براسینواستروئید آزاد و ۵ براسینواستروئید متصل به ترکیبات دیگر در گیاهان شناسایی و مطالعه شده است (Bajguz 2007). براسینواستروئیدها در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی و سلولی گیاه از جمله رشد لوله گرده، خمیدگی برگ، نمو میوه و بیوسنتز اتیلن نقش دارند (Xia et al. 2009). همچنین براسینواستروئیدها روی تمایز عناصر آوندی، قطبی شدن غشای سلولی، پمپ کردن

✉ Tahmasebi.info@yahoo.com

پروتون به آپوپلاست و داخل واکوئل توسط تحریک ATPase های غشایی تأثیر می‌گذارند و همچنین باعث افزایش کارایی فتوسنتز توسط افزایش میزان جذب دی اکسید کربن و فعالیت روبیسکو می‌شوند (Gruszka 2013). براسینواستروئیدها همچنین بیان ژن‌های آلفا و بتا توبولین را تحریک می‌کنند و روی آرایش میکروفیبریل‌های سلولزی اثر می‌گذارند. پیری برگ نیز با این گروه از هورمون‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Gruszka 2013). در مواردی که این هورمون در غلظت‌های بالا به صورت تیمار خارجی استفاده می‌شود، از رشد طولی ریشه جلوگیری می‌کند، اما تشکیل ریشه‌های جانبی را افزایش می‌دهد. براسینواستروئیدها فرایندهای مرتبط با نور را در گیاه تنظیم می‌کنند و اثر مثبتی روی تنظیم زمان گلدهی دارند (Gruszka 2013). براسینواستروئیدها باعث افزایش سازگاری گیاهان در برابر شرایط نامساعد محیطی نیز می‌شوند (Khripach et al. 1998). در شرایط تنش که فرایندهای مخرب غشاء فعال شده و منجر به پراکسیده شدن لیپیدهای غشا می‌شوند، براسینواستروئیدها مقدار تجمع مالون دآلدئید حاصل از پراکسیده شدن لیپیدهای غشا را کاهش می‌دهند و در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی نقش دارند (Khripach et al. 1998). در این مطالعه سعی شده است هورمون براسینواستروئید و جنبه‌های مختلف آن از جمله بیوسنتز، درک و انتقال پیام و نقش آن‌ها در پاسخ به بیمارگرهای مختلف گیاهی بیان شود.

۱- ساختار و بیوسنتز براسینواستروئیدها

براسینواستروئیدها پلی هیدروکسی استروئید لاکتون با ساختار براسینولید و ساختار استروئیدهای دارای اسکلت کربنی مشابه با استروئیدهای جانوری می‌باشند. فعالترین و اولین فرم شناخته شده این دسته از ترکیبات، براسینولید می‌باشد که به عنوان ساختار پایه این سیستم در نظر گرفته می‌شود. تعداد زیادی از آنالوگ‌های براسینواستروئید وجود دارد که پایدارترین آنها شامل اپی‌براسینولید، هوموبراسینولید و براسینولید می‌باشند. همچنین تعدادی از آنالوگ‌های تجاری و سنتز شده براسینواستروئید در بازار وجود دارد. با توجه به خصوصیات غیرسمی و ایمن بودن براسینواستروئیدها برای محیط زیست، این ترکیبات به طور گسترده‌ای در جهت افزایش جوانه‌زنی بذر، افزایش عملکرد و کیفیت محصول و حفاظت گیاهان در برابر تنش‌های مختلف در تعدادی از محصولات کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Ali 2017).

براسینواستروئیدها گروهی از مشتقات تری‌ترپنویید هستند و از متابولیت‌های اولیه استیل‌کوآنزیم آ و حد واسط‌های گلیکولیتیک سنتز می‌شوند. سه مولکول استیل کوآنزیم آ به یکدیگر متصل می‌شوند و از طریق مسیر اسید موالونیک تشکیل مولانات را می‌دهند (Li and Gou 2007). سنتز براسینواستروئیدها از طریق تبدیل مولونات به اسکوالن اپاکسید شروع می‌شود. در مرحله بعد تبدیل اسکوالن اپاکسید به پیش‌ساز استرولی سیکلو آرتنول می‌باشد که به استرول‌های گیاهی از جمله کمپاسترول، استیگما استرول و سیتواسترول تبدیل می‌شوند. کمپاسترول پیش ساز براسینولید می‌باشد و براسینولید فعالترین نوع طبیعی براسینواستروئیدها می‌باشد (Clouse 2002). کمپ استرول به کاستاسترون و سپس از طریق مسیرهای اکسیده شدن سی-۶ به براسینولید تبدیل می‌شود (Yang et al. 2011).

۲- انتقال پیام براسینواستروئیدها

مسیر انتقال پیام براسینواستروئید با درک هورمون توسط کمپلکس گیرنده مرتبط با غشای پلاسمایی شروع می‌شود و از طریق فرایند فسفوریله شدن و از دست دادن فسفر منتقل می‌شود (Gruszka 2013). براسینواستروئیدها توسط گیرنده غیرحساس به براسینواستروئید *BRI1* (Brassinosteroid Insensitive 1) در غشای پلاسمایی شناسایی می‌شوند که جزء مهمی برای تنظیم فرآیندهای ایجاد شده توسط براسینواستروئید می‌باشد. گیرنده *BRI1* دامانه (Domain) خارج سلولی با ۲۴ تکرار غنی از لوسین دارد. دامانه سیتوپلاسمی *BRI1* دارای سرین/ترونین کیناز و ناحیه انتهایی کربوکسیله شده می‌باشد (Li and Chory 1997). چندین اجزا در مسیر پیام‌رسانی براسینواستروئید شناسایی شده که می‌توان به *BAK1* (*BRI1*-Associated Receptor Kinase 1) (گیرنده کیناز مرتبط با *BRI1*)، *BIN2* (Brassinosteroid Insensitive 2) (گیرنده غیرحساس به براسینواستروئید) و *BSU1* (*BRI1*-Suppressor1) (فسفاتاز؛ سرکوبگر *BRI1*) اشاره کرد. اتصال *BRI1* به *BIN2* و احتمالاً فسفاتاز *BSU1* را فعال می‌کند. براسینواستروئیدها به طور مستقیم به دامانه خارج سلولی گیرنده کینازی *BRI1* متصل می‌شوند و در نتیجه مجموعه‌ای از پاسخ‌های بیوشیمیایی را از جمله هتروداایمر شدن *BRI1*، فعال شدن گیرنده کینازی *BAK1*، فسفوریله شدن کینازهای پیام‌رسان برهمکنش‌کننده با *BRI1* و فعال شدن فسفاتاز پروتئین سرکوبگر *BRI1*، را القا می‌کنند. این وقایع باعث بازدارندگی کیناز *BIN2* و فعال شدن فاکتورهای رونویسی می‌شوند که در نهایت بیان ژن‌های پایین‌دست را تنظیم می‌کنند (Sun et al. 2010, Yu et al. 2011). *BRI1* فعال شده با گیرنده *BAK1* برهمکنش می‌دهد و آن را فعال می‌کند (Li et al. 2002, Nam and Li, 2002). کیناز *BIN2* و فسفاتاز *BSU1* در پایین‌دست گیرنده‌های کیناز عمل می‌کنند و وضعیت فسفوریله شدن فاکتورهای رونویسی را تنظیم می‌کنند. فاکتورهای رونویسی که فسفر خود را از دست داده‌اند پیشبرهای ژن‌های هدف براسینواستروئید را تشخیص می‌دهند و بیان آن‌ها را تنظیم می‌کنند (He et al. 2002, Yin et al. 2002). گیرنده *BAK1* بخشی از کمپلکس گیرنده براسینواستروئید می‌باشد که برای فعالیت *BRI1* از طریق فسفوریله شدن مورد نیاز می‌باشد. دامانه‌های کیناز عملکردی *BAK1* و *BRI1* برای فسفوریله شدن دوجانبه لازم می‌باشند. دامانه خارج سلولی *BRI1* برای برهمکنش با *BAK1* لازم است اما فعالیت کینازی *BRI1* برای القای براسینواستروئید در ارتباط با *BAK1* لازم می‌باشد (Yang et al. 2011). گیرنده *BAK1* براسینواستروئید با گیرنده‌هایی که الگوهای مولکولی مرتبط با بیمارگر را تشخیص می‌دهند، برهمکنش دارد که پاسخ‌های دفاعی را مستقل از پیام‌رسانی براسینواستروئید شروع می‌کند. پاسخ‌های ایمنی در گیاهان از طریق تشخیص الگوهای مولکولی مرتبط با بیمارگر در سطح سلول میزبان با گیرنده‌ها که اغلب کینازهای غنی از لوسین *LRR-RKs* (Leucine-Rich Repeat Receptor Kinases) هستند، شروع می‌شود (Dodds and Rathjen 2010). این الگوهای مولکولی از طریق گیرنده‌های تشخیص اختصاصی باعث فعال شدن کینازها و توقف رشد و تکثیر بیمارگر می‌شوند (Segonzac and Zipfel 2011).

۳- نقش براسینواستروئیدها در واکنش‌های گیاهان به بیمارگرها

گیاهان با سازوکارهای دفاعی متعدد در برابر بیمارگرها مقاومت نشان می‌دهند (Gholamnezhad 2017).

پژوهش‌های اخیر نشان داده است که هورمون‌های رشد نظیر براسینواستروئید و اسید جیبرلیک نقش‌های مهمی در ایمنی گیاه ایفا می‌کنند (De Bruyne et al. 2014, Lozano-Durán and Zipfel 2015). براسینواستروئید و اسید جیبرلیک با مسیرهای پیام‌رسانی دفاعی گیاه اثرات متقابلی دارند تا بتوانند توازن بین رشد و ایمنی را در شرایط فیزیولوژیک مختلف تنظیم کنند (De Bruyne et al. 2014, Lozano-Durán and Zipfel 2015, Jimenez-Gongora et al. 2015). کاربرد خارجی براسینواستروئیدها منجر به مقاومت علیه طیف وسیعی از بیمارگرها می‌شود (Buchanan et al. 2000). کاربرد براسینواستروئید، حساسیت برنج به بیماری سوختگی باکتریایی ناشی از *Xanthomonas oryzae* Swings و قارچ *Magnaporthe grisea* Hebert را کاهش می‌دهد، ولی مقاومت توتون (*Nicotiana tabacum* L.) به ویروس موزاییک توتون، باکتری *Pseudomonas syringae* van Hall و سفیدک پودری *Oidium* sp. Link را افزایش می‌دهد (Nakashita et al. 2003). براسینواستروئیدها به عنوان فعال‌کننده‌های قدرتمند مقاومت علیه طیف وسیعی از بیمارگرها در گیاهان می‌باشند (Krishna 2003). کاربرد خارجی این هورمون‌ها باعث مقاومت موضعی و سیستمیک در توتون و برنج بر علیه بیمارگرهای برگ‌گی مختلف شده است (Nakashita et al. 2003). بوته‌های سیب‌زمینی محلول‌پاشی شده با براسینولید میزان کمتری آلودگی به *Phytophthora infestans* (Montagne) de Bary نشان داده‌اند (Krishna 2003). افزایش مقاومت غده‌های سیب‌زمینی تیمار شده با براسینولید به دلیل افزایش میزان اسید آسبیزیک و اتیلن و تولید مواد ترپنوییدی و فنلی گزارش شده است (Krishna 2003). در گیاهان خیار تیمار شده با براسینولید، فعالیت‌ها آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز افزایش یافته است. این آنزیم‌ها در متابولیسم پلی‌فنل‌ها ضروری هستند و به عنوان عاملی در مقاومت گیاهان به بیماری‌ها می‌باشند (Krishna 2003). براسینواستروئید همچنین باعث افزایش میزان پراکسید هیدروژن در برگ‌های خیار می‌شود. پراکسید هیدروژن می‌تواند به عنوان مولکول پیام‌رسان در پاسخ به محرک‌های مختلف در سلول‌های گیاهی و جانوری عمل کند و همچنین در القای تحمل به تنش با براسینواستروئید، نقش ایفا می‌کند (Xia et al. 2009). تیمار بوته‌های گوجه‌فرنگی با اپی‌براسینولید باعث عدم مشاهده نشانه‌های بیماری و یا کمترین میزان بیماری در بوته‌های تلقیح شده با *Verticillium dahliae* Kleb شد (Krishna 2003). در پژوهشی، تیمار براسینواستروئید در جو باعث القای مقاومت به چندین بیمارگر قارچی شد (Ali et al. 2013). کاربرد اپی‌براسینولید روی جو منجر به کاهش شدت سوختگی فوزاریومی تا ۸۶ درصد شد و خسارت این بیماری روی عملکرد را تا ۳۳ درصد کاهش داد. همچنین کاشت بذر جو در خاک تیمار شده با اپی‌براسینولید منجر به کاهش سوختگی فوزاریومی گیاهچه‌ها شد (Ali et al. 2013).

کاربرد اپی‌براسینولید باعث افزایش سیستم دفاعی و مقاومت سیستمیک گیاه علیه بیمارگر *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. در گیاهان چای شد. اپی‌براسینولید باعث کاهش تعداد لکه‌های بیماری و افزایش فعالیت فنیل‌آلانیل‌آمونیا لایز در برگ‌های مایه‌زنی شده با این بیمارگر گردید (Zhang et al. 2018). همچنین افزایش معنی‌دار ژن‌های دخیل در براسینواستروئید در بافت‌های گیاهان کلزا بعد از تیمار با باکتری‌های مفید محرک رشد از جمله *Bacillus amyloliquefaciens* (Fukumoto) Priest مشاهده شد (Sarosh et al. 2009). مسیر مقاومت سیستمیک که با براسینواستروئید القا می‌شود، متمایز از مقاومت اکتسابی سیستمیک

است که با بیمارگرهای مرده‌پرور (Necrotrophic pathogens) و سایر مواد نظیر اسید سالیسیلیک القا می‌شود (Nakashita et al. 2003). مقاومت اکتسابی سیستمیک باعث مقاومت پایدار به طیف وسیعی از بیمارگرها از جمله ویروس‌ها می‌شود (Tahmasebi et al. 2011b). کاربرد اپی‌براسینولید اثری در القای مقاومت بوته‌های آرابیدوپسیس ((*Arabidopsis thaliana* (Linnaeus) Heynhold) آلوده شده به باکتری *Pseudomonas Alternaria brassicicola* syringae pv. tomato (Okabe) Young, Dye and Wilkie و قارچ (Schwein) Wiltshire) نداشت (Albrecht et al. 2012).

براسینواستروئیدها دارای خواص ضد ویروسی نیز هستند. سیب‌زمینی‌هایی که در محیط کشت دارای براسینواستروئید کشت داده شدند، در همه مراحل رشدی، به آلودگی‌های ویروسی بسیار مقاوم بودند (Krishna 2003). کاربرد براسینواستروئید مقاومت گیاه را نسبت به ویروس موزاییک توتون افزایش داد که با تنظیم پروتئین کیناز و انفجار اکسیداتیو (Oxidative burst) انجام می‌شود (Deng et al. 2016). تیمار براسینولید باعث افزایش مقاومت با ژن *N* در پاسخ به ویروس موزاییک توتون شد که منجر به اندازه کوچک‌تر لکه‌ها و انتشار محدود ویروس در جایگاه آلودگی گردید (Nakashita et al. 2003). مقاومت گیاهان در برابر ویروس‌ها مستلزم تشخیص ویروس و پیام‌رسانی بعد از تشخیص می‌باشد. ترکیبات مختلفی در گیاه در این مسیرهای پیام‌رسانی ایفای نقش می‌کنند (Tahmasebi et al. 2011a). همچنین تیمار براسینولید باعث افزایش مقاومت سیستمیک به ویروس موزاییک توتون از طریق تولید انواع اکسیژن فعال در *Nicotiana benthamiana* Domin شد و مقاومت ایجاد شده در گیاهان جهش یافته در گیرنده براسینواستروئید از بین رفت (Deng et al. 2016). بازدارندگی از همانندسازی ویروس موزاییک توتون با براسینواستروئید مستلزم افزایش سنتز پراکسید هیدروژن و نیتریک اکسید می‌باشد که برای افزایش بیان ژن مرتبط با دفاع، لازم است. هم‌چنین، تیمار براسینواستروئید باعث افزایش مقاومت گیاه آرابیدوپسیس به ویروس موزاییک خیار شد. بنابراین پیام‌رسانی براسینواستروئید برای مقاومت به ویروس موزاییک خیار ضروری می‌باشد. مقاومت القا شده با براسینواستروئید به ویروس موزاییک خیار مرتبط با سیستم ضد اکسایش بود که از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایش نظیر سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز می‌باشد (Zhang et al. 2015). تیمار هوموبراسینولید تنش اکسایشی در اثر نماتدها را کاهش داد و مقاومت گیاهان گوجه‌فرنگی را با افزایش رشد و فعالیت سیستم دفاعی ضد اکسایش، افزایش داد (Kaur et al. 2013).

اگر چه براسینواستروئیدها به عنوان تنظیم‌کننده‌های مثبت در مقاومت به بیماری در گیاهان در نظر گرفته می‌شدند، اما یافته‌های اخیر نقش براسینواستروئیدها را در افزایش حساسیت نیز آشکار می‌سازد (Albrecht et al. 2012, Belkadir et al. 2012, De Vleeschauwer et al. 2012, Nahar et al. 2013, Shi et al. 2013). پیش‌تیمار این هورمون باعث حساسیت بالای برنج نسبت به بیمارگرهای *Pythium graminicola* Subraman و *Meloidogyne graminicola* Golden and Birchfield شد که به نقش هورمون براسینواستروئید به‌عنوان کاهنده ایمنی گیاه، اشاره دارد (De Vleeschauwer et al. 2012, Nahar et al. 2013). بیمارگر *P. graminicola* براسینواستروئیدهای داخلی را به عنوان فاکتورهای بیماری‌زایی در برنج به کار می‌گیرد و از براسینواستروئید میزبان برای توسعه بیماری استفاده می‌کند که این مثال افزایش

حساسیت به بیماری بر خلاف سایر موارد افزایش مقاومت در براسینواستروئید می‌باشد (De Vleesschauwer et al. 2012). براسینواستروئید همچنین باعث افزایش حساسیت به ویروس کوتولگی رگه سیاه برنج (Rice black-streaked dwarf virus) در گیاهان برنج شد و این افزایش حساسیت بخاطر اثر براسینواستروئید در سرکوب پاسخ‌های دفاعی مرتبط با جاسمونیک اسید بود. در این برهمکنش، ارتباط آنتاگونیستی بین اثرات براسینواستروئید و جاسمونیک اسید در دفاع گیاه علیه ویروس مشاهده شد (He et al. 2017). در پژوهشی دیگر، براسینواستروئید باعث افزایش حساسیت سیب زمینی نسبت به بیمارگر *Phytophthora infestans* گردید (Vasyukova et al. 1994). براسینواستروئیدها در غلظت‌های خاص و در مراحل رشدی خاص گیاه، باعث تحریک رشد قارچ و توسعه بیماری می‌شود. بنابراین، غلظت، زمان و روش کاربرد براسینواستروئید نکات مهمی می‌باشند که باید در زمان استفاده آن علیه بیمارگرها مورد توجه قرار گیرند (Krishna 2003). کاربرد اپی براسینولید در غلظت‌های پایین باعث افزایش حساسیت در ریشه‌های گوجه‌فرنگی شد، در حالی که غلظت‌های بالای اپی براسینولید دفاع سیستمیک را علیه نماتدها القا کرد (Nahar et al. 2013). براسینواستروئیدها در برهمکنش گیاه با هر سه گروه بیمارگر زیوپارور (Biotrophic pathogen)، مرده‌پرور و نیمه‌زیوپارور (Hemibiotrophic pathogen) نقش دارند. اثر براسینواستروئیدها در پاسخ‌های دفاعی یا حساسیت به سازوکار آلودگی و چرخه زندگی بیمارگر و نحوه تیمار هورمون روی گیاهان، بستگی دارد (Pieterse et al. 2009).

نتیجه‌گیری

براسینواستروئیدها گروه منحصر به فردی از هورمون‌های گیاهی هستند که برای رشد و نمو گیاه ضروری هستند. پژوهش‌های زیادی نقش آنها را در واکنش مقاومت به بیمارگرهای گیاهی مورد تأیید قرار داده‌اند. اثر براسینواستروئید روی بیمارگرهای مختلف بسته به گونه گیاهی و بیمارگر دارد. همچنین اثر براسینواستروئیدها در القای پاسخ‌های دفاعی به نوع بیمارگر و نحوه و زمان تیمار هورمون در گیاهان بستگی دارد. مقاومت القا شده با براسینواستروئید می‌تواند یکی از روش‌های ایجاد مقاومت در گیاهان تیمار شده با باکتری‌های مفید محرک رشد نیز باشد. همچنین دستکاری ژنتیکی مسیرهای مختلف تولید براسینواستروئیدها می‌تواند موجب افزایش مقاومت گیاهان نسبت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی شود.

References

منابع

1. Albrecht C, Boutrot F, Segonzac C, Schwessinger B, Gimenez- Ibanez S, Chinchilla D, Rathjen JP, de Vries SC, Zipfel C (2012) Brassinosteroids inhibit pathogen-associated molecular pattern-triggered immune signaling independent of the receptor kinase BAK1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 109:303-308.
2. Ali B (2017) Practical applications of brassinosteroids in horticulture-Some field perspectives. *Scientia Horticulturae* 225:15-21.
3. Ali SS, Kumar GS, Khan M, Doohan FM (2013) Brassinosteroid enhances resistance to fusarium diseases of barley. *Phytopathology* 103:1260-1267.

4. Bajguz A, Tretyn A (2003) The chemical characteristic and distribution of brassinosteroids in plants. *Phytochemistry* 62:1027-104.
5. Bajguz A (2007) Metabolism of brassinosteroids in plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 45:95-107.
6. Belkhadir Y, Jaillais Y, Eppele P, Balsemao-Pires E, Dangl JL, Chory J (2012) Brassinosteroids modulate the efficiency of plant immune responses to microbe-associated molecular patterns. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109:297-302.
7. Buchanan B, Gruissem W, Jones R (2000) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. Rockville MD USA. American Society of Plant Biologists. 988-1043.
8. Clouse SD, Sasse M (1998) Brassinosteroids: essential regulators of plant growth and development. *Annual Review of Plant Biology* 49:427-451.
9. Clouse SD (2002) Brassinosteroid signal transduction: Clarifying the pathway from ligand perception to gene expression. *Molecular Cell* 10:973-982.
10. De Bruyne L, Höfte M, De Vleeschauwer D (2014) Connecting growth and defense: The emerging roles of brassinosteroids and gibberellins in plant innate immunity. *Molecular Plant* 7:943-959.
11. De Vleeschauwer DD, Buyten EV, Satoh K, Balidion J, Mauleon R, Choi IR, Vera-Cruz C, Kikuchi S, Hofte M (2012) Brassinosteroids Antagonize Gibberellin and Salicylate-Mediated Root Immunity in Rice. *Plant Physiology* 158:1833-1846.
12. Deng XG, Zhu T, Zou LJ, Han XY, Zhou X, Xi DH, Zhang DW, Lin HH (2016) Orchestration of hydrogen peroxide and nitric oxide in brassinosteroid-mediated systemic virus resistance in *Nicotiana benthamiana*. *The Plant Journal* 85:478-493.
13. Dodds PN, Rathjen JP (2010) Plant immunity: towards an integrated view of plant-pathogen interactions. *Nature Reviews Genetics* 11:539-548.
14. Gholamnezhad J (2017) Plants defense mechanisms against pathogens. *Plant Pathology Science* 6:24-32.
15. Gruszka D (2013) The Brassinosteroid signaling pathway-new key players and interconnections with other signaling networks crucial for plant development and stress tolerance. *International Journal of Molecular Sciences* 14:8740-8774.
16. He JX, Gendron JM, Yang YL, Li JM, Wang ZY (2002) The GSK3-like kinase BIN2 phosphorylates and destabilizes BZR1, a positive regulator of the brassinosteroid signaling pathway in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99:10185-10190.
17. He Y, Zhang H, Sun Z, Li J, Hong G, Zhu Q, Zhou X, MacFarlane S, Yan F and Chen J (2017) Jasmonic acid-mediated defense suppresses brassinosteroid-mediated susceptibility to Rice black streaked dwarf virus infection in rice. *New Phytologist* 214:388-399.

18. Jimenez-Gongora T, Kim SK, Lozano-Duran R, Zipfel C (2015) Flg22-triggered immunity negatively regulates key BR biosynthetic genes. *Frontiers in plant science* 6:981.
19. Kaur R, Ohri P, Bhardwaj R (2013) Effect of 28-homobrassinolide on susceptible and resistant cultivars of tomato after nematode inoculation. *Plant Growth Regulation* 71:199-205.
20. Khripach VA, Zhabinskii VN, Groot AE (1998) *Brassinosteroids: A new class of plant hormones*. Academic Press, United States of America, 460p.
21. Krishna P (2003) Brassinosteroid-mediated stress responses. *Journal of Plant Growth Regulation* 22:289-297.
22. Li J, Chory J (1997) A putative leucine-rich repeat receptor kinase involved in brassinosteroid signal transduction. *Cell* 90:929-938.
23. Li J, Gou X (2007) *Brassinosteroids*. Encyclopedia of life sciences, John Wiley and Sons, Ltd. 9p.
24. Li JM, Nagpal P, Vitart V, McMorris TC, Chory J (1996) A role for brassinosteroids in light dependent development of *Arabidopsis*. *Science* 272:398-401.
25. Li JM, Wen J, Lease KA, Doke JT, Tax FE, Walker JC (2002) BAK1, an *Arabidopsis* LRR receptor-like protein kinase, interacts with BRI1 and modulates brassinosteroid signaling. *Cell* 110:213-222.
26. Lozano-Durán R, Zipfel C (2015) Trade-off between growth and immunity: Role of brassinosteroids. *Trends in Plant Science* 20:12-19.
27. Nahar K, Kyndt T, Hause B, Hofte M, Gheysen G (2013) Brassinosteroids suppress rice defense against root-knot nematodes through antagonism with the jasmonate pathway. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 26:106-115.
28. Nakashita H, Yasuda M, Nitta T, Asami T, Fujioka S, Arai Y, Sekimata K, Takatsuto S, Yamaguchi I, Yoshida S (2003) Brassinosteroid functions in a broad range of disease resistance in tobacco and rice. *Plant Journal* 33:887-898.
29. Nam KH, Li JM (2002) BRI1/BAK1, a receptor kinase pair mediating brassinosteroid signaling. *Cell* 110:203-212.
30. Pieterse CM, Leon-Reyes A, Van der Ent S, Van Wees SC (2009) Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nature Chemical Biology* 5:308-316.
31. Sarosh B, Danielsson J, Meijer J (2009) Transcript profiling of oilseed rape (*Brassica napus*) primed for biocontrol differentiate genes involved in microbial interactions with beneficial *Bacillus amyloliquefaciens* from pathogenic *Botrytis cinerea*. *Plant Molecular Biology* 70:31-45.
32. Segonzac C, Zipfel C (2011) Activation of plant pattern recognition receptors by bacteria. *Current Opinion in Microbiology* 14:54-61.

33. Shi H, Shen Q, Qi Y, Yan H, Nie H, Chen Y, Zhao T, Katagiri F, Tang D (2013) BR-Signaling kinase1 physically associates with flagellin sensing2 and regulates plant innate immunity in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 25:1143-1157.
34. Sun Y, Fan XY, Cao DM, Tang W, He K, Zhu JY, He JX, Bai MY, Zhu S, Oh E (2010) Integration of brassinosteroid signal transduction with the transcription network for plant growth regulation in *Arabidopsis*. *Developmental Cell* 19:765-777.
35. Tahmasebi A, Dizaji A, Zangeneh M, Koohi Habibi M (2011a) Signal transduction pathways in resistance to plant viruses. *Genetics in the 3rd Millennium* 9:2508-2520. (In Persian with English Abstract).
36. Tahmasebi A, Zangeneh M, Tahmasebi A, Dizaji A, Koohi Habibi M (2011b) Role of salicylic acid in resistance to plant viruses. *Genetics in the 3rd Millennium* 8:2203-2212. (In Persian with English Abstract).
37. Vasyukova NJ, Chalenko GI, Kaneva IM, Khripach VA (1994) Brassinosteroids and potato blight. *Applied Biochemistry and Microbiology* 30:464-470.
38. Xia XJ, Wang YJ, Zhou YH, Tao Y, Mao WH, Shi K, Asami T, Chen Z, Yu JQ (2009) Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-Induced stress tolerance in Cucumber. *Plant Physiology* 150:801-814.
39. Yang CJ, Zhang C, Lu YN, Jin JQ, Wang XL (2011) The mechanisms of brassinosteroids' action: From signal transduction to plant development. *Molecular Plant* 4:588-600.
40. Yin Y, Wang ZY, Mora-Garcia S, Li JM, Yoshida S, Asami T, Chory J (2002) BES1 accumulates in the nucleus in response to brassinosteroids to regulate gene expression and promote stem elongation. *Cell* 109:181-191.
41. Yu MH, Zhao ZZ, He JX (2018) Brassinosteroid signaling in plant-microbe interactions. *International Journal of Molecular Sciences* 19:4091.
42. Yu X, Li L, Zola J, Aluru M, Ye H, Foudree A, Guo H, Anderson S, Aluru S, Liu P (2011) A brassinosteroid transcriptional network revealed by genome-wide identification of BES1 target genes in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal* 65:634-646.
43. Zhang DW, Deng XG, Fu FQ, Lin HH (2015) Induction of plant virus defense response by brassinosteroids and brassinosteroid signaling in *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 241:875-885.
44. Zhang L, Ahammed GJ, Li X, Wei JP, Li Y, Yan P, Zhang LP, Han WY (2018) Exogenous brassinosteroid enhances plant defense against *Colletotrichum gloeosporioides* by activating phenylpropanoid pathway in *Camellia sinensis* L. *Journal of Plant Growth Regulation* 37:1235-1243.



Review Article Oak charcoal rot disease in Iran

SAMANEH AHMADI¹, FARIBA GHADERI^{1✉}, DARIUSH SAFAEE²

1-Department of Plant Protection, Yasouj University, Yasouj, Iran.

2- Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center,
AREEO, Kermanshah, Iran

Received: 28.02.2020

Accepted: 20.08.2020

Ahmadi S, Ghaderi F, Safaee D (2020) Oak charcoal rot disease in Iran. Plant Pathology Science 9(1):118-128. DOI: 10.2982/PPS.9.1.118.

Abstract

Oak charcoal rot is caused by two fungi, *Biscogniauxia mediterranea* and *Obolarina persica*. These fungi, which are opportunistic or secondary invaders and attack stressful trees, are one of the main problems of oak forests in Iran. The disease was first reported in 2011 in the northern forests on *Quercus castaneifolia* and *Zelkova carpinifolia* trees and then in the Zagros forests on *Q. brantii* tree. The disease has spread rapidly in the forests of the Zagros over the years. Symptoms of the disease include decay and death of trees, browning of leaves and early fall. Gum secretion on the branches and trunks of old trees and browning of wood texture and woody vessels can be seen up and down the height of the trunk. The morphological characteristics of pathogens, the spread and survival of pathogens, and disease management methods are described in this article.

Key words: Disease, Oak, *Biscogniauxia*, *Obolarina*

✉ fghaderi2003@yahoo.com

مقاله مروری

بیماری پوسیدگی ذغالی بلوط در ایران

سمانه احمدی^۱، فریبا قادری^۱✉، داریوش صفایی^۲

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه یاسوج، یاسوج

۲- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه، کرمانشاه

دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۰۹

پذیرش: ۱۳۹۹/۰۵/۳۰

احمدی س، قادری ف، صفایی د (۱۳۹۸) بیماری پوسیدگی ذغالی بلوط در ایران. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۹(۱): ۱۱۸-۱۲۸. DOI: 10.2982/PPS.9.1.118.

چکیده

بیماری پوسیدگی ذغالی بلوط توسط دو قارچ *Obolarina persica* و *Biscogniauxia mediterranea* پدید می‌آید. این قارچ‌ها که فرصت‌طلب یا مهاجم ثانویه هستند و به درختان دچار تنش حمله می‌کنند، یکی از مشکلات اصلی جنگل‌های بلوط در ایران هستند. بیماری اولین بار در سال ۱۳۹۰ در جنگل‌های شمال روی درختان *Quercus castaneifolia* و *Zelkova carpinifolia* و سپس در جنگل‌های زاگرس روی درخت *Q. brantii* گزارش شده است. بیماری طی سالیان گذشته، به سرعت در جنگل‌های زاگرس انتشار یافته است. نشانه‌های بیماری به صورت زوال و مرگ درختان، قهوه‌ای شدن برگ‌ها و خزان زودرس می‌باشد. ترشح صمغ روی شاخه‌ها و تنه درختان مسن و قهوه‌ای شدن بافت چوب و آوندهای چوبی در سرتاسر ارتفاع تنه به سمت بالا و پایین درخت دیده می‌شود. مشخصات ریخت‌شناختی بیمارگرها، گسترش و بقای بیمارگرها و روش‌های مدیریت بیماری در این مقاله شرح داده شده‌اند.

واژگان کلیدی: بیماری، بلوط، *Obolarina*، *Biscogniauxia*

مقدمه

تیره راش (Fagaceae) در سرتاسر جهان شامل بیش از هزار گونه گیاهی است. تمام درختان تیره راش چوبی هستند و در نواحی معتدله نیمکره شمالی پراکنش دارند. تیره راش، هفت جنس دارد که جنس بلوط (*Quercus* L.) با بیش از ۶۰۰ گونه بزرگترین آنها است (Fortini et al. 2009, Ragazzi et al. 2012). بلوط دارای رویشگاه‌های وسیعی در قاره اروپا (انگلستان، ایرلند، فرانسه، اسپانیا، آلمان، لهستان و رومانی)، آسیا (ایران، ترکیه، عراق، لبنان، سوریه و قسمتی از افغانستان، پاکستان، هند و چین) و آمریکا (ایالات متحده، مکزیک، گواتمالا) است. این گیاه، فراوان‌ترین گونه درختی در غرب ایران به‌ویژه منطقه زاگرس است (Mirabolfathy 2013). اغلب گونه‌های بلوط، درختان بلند جنگلی با پوستی ضخیم و چوبی و سخت و مقاوم هستند که از آن‌ها در تهیه کفپوش، مبلمان، مواد ساختمانی و پیوندهای راه‌آهن استفاده می‌شود و گاهی بیش از ۲۰۰ سال عمر می‌کنند که به همراه راش و ممرز از درختان مهم جنگل‌های شمال ایران نیز محسوب می‌شوند. بلوط از جنبه‌های مختلف برای انسان اهمیت دارد که از بین آنها می‌توان به تولید اکسیژن، منبع تغذیه و تنوع زیستی حیات وحش، کاهش آلودگی هوا، تولید خاک، جلوگیری از بروز سیلاب‌های

✉ fghaderi2003@yahoo.com

مخرب، تولید بخش زیادی از علوفه برای تغذیه دام و غیره اشاره کرد. چوب و میوه آن همچنین دارای مصارف گوناگون صنعتی، دارویی و غذایی می باشد (Fortini et al. 2009). درختان بلوط مورد حمله بسیاری از آفات و عوامل بیماریزا قرار می گیرند. شایع ترین بیماری درختان بلوط پوسیدگی ذغالی است که به طور جدی در ایران حیات درختان بلوط را تهدید می کند (صدری و مرادی ۱۳۹۶، Sadravi and Moradi 2017). البته بیماری زوال بلوط خاص یک منطقه و یک گونه خاص نیست و در بیشتر جنگل های بلوط دنیا شیوع دارد (Ragazzi et al. 2012).

۱- اهمیت بیماری

اولین بار بیماری در اوایل قرن هفدهم میلادی از جنگل های آلمان گزارش شده است. سپس گزارش های نگران کننده آن در دهه ۱۹۸۰ از سایر کشورهای اروپایی حساسیت بین المللی را برای مقابله با این بیماری برانگیخت (Cobos et al. 1993). بیماری در سال ۱۹۸۶ روی شاه بلوط (*Castanea sativa* Mill) از بریتانیا گزارش و عامل آن *Biscogniauxia mediterranea* De Not O. Kuntze معرفی شد (Spooner 1986). بیماری به عنوان یک معضل جدی در جنگل های پرتغال نیز گزارش شده است که در این کشور ۴۱/۵ درصد درختان به آن آلوده شده اند (Nugent et al. 2005). همچنین شیوع چشمگیر بیماری روی *Q. ilex* L., *Q. suberi* L. از آفریقا، آمریکای مرکزی، اروپا و روسیه (Jurc and Ogris 2005، Manion and Griffin 1986, Ju et al. 1998)، اسپانیا و اسلوونی (Jurc and Ogris 2005) نیز گزارش شده است. که خسارتی حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد وارد نموده است که در اروپا دو گونه *Q. robur* L. و *Q. petraea* (Matt.) Liebl بیشتر تحت تأثیر این بیماری قرار گرفته اند (Jurc and Ogris 2006). همچنین این بیماری به عنوان یکی از عوامل اصلی مرگ و زوال درختان بلوط (*Quercus cerri*) در ایتالیا (Franceschini et al. 2004)، برخی از جنگل های آمریکا، آسیا و شمال آفریقا، ترکیه (Capretti and Battist 2007) و شمال غرب الجزایر (Smahi et al. 2014) شناخته شده است.

اولین نشانه های شیوع بیماری زوال درختان بلوط در ایران در سال ۱۳۸۵ در جنگل های ایلام توسط کارشناسان محلی گزارش شد، سپس در سال های ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹، جنگل های زاگرس در سطحی معادل ۱۰۰ هزار هکتار گرفتار این بیماری شدند و بیماری به سرعت گسترش یافت به طوری که در سال ۱۳۹۳ بالغ بر یک میلیون هکتار از جنگل های زاگرس آلوده به این بیماری گزارش شدند. بیماری در ۱۳۸۸ از درختان بلندمازو در توسکستان و پارک جنگلی قرق استان گلستان گزارش شده است (Mirabolfathy et al. 2011). اطلاعات دقیقی از میزان خسارت بیماری در ایران در دسترس نیست ولی مناطق بروز و شیوع بیماری شامل استان های ایلام، فارس، لرستان، چهارمحال و بختیاری، کهگیلویه و بویراحمد، کرمانشاه و خوزستان می باشند (Mirabolfathy et al. 2011, Mirabolfathy 2013, Hosseini et al. 2012).

۲- نشانه های بیماری

نشانه های بیماری شامل ترشح شیره گیاهی در قسمت های آلوده، جدا شدن پوست درخت، تیره و سیاه شدن بافت آوندها و چوب می باشد (Mirabolfathy 2013). خشکیدگی بلوط معمولاً به صورت خشک شدن شاخه ها و برگ های روی آنها توأم با قهوه ای شدن برگ ها نمایان می شود که معمولاً در یک سمت تاج درخت از سرشاخه ها شروع شده به تدریج به سمت پایین و دیگر نواحی تاج گسترش می یابد و در نهایت درخت به طور کامل خشکیده می شود (شکل ۱، A)، بنابراین سرخشکیدگی نشانه بیماری است (Safaei et al. 2016).



شکل ۱. بیماری پوسیدگی ذغالی بلوط. (A) خشکیدگی درخت (B) استرومای سیاه رنگ حاوی پریتسیوم‌های قارچ (اصلی)

Figure 1. Oak charcoal disease, A) dried tree and B) Formation of black stroma containing perithecia.

در اوایل بهار حضور سوسک‌های شیرابه‌خوار در اطراف درختان بیمار جمعیت استفاده از مایع درون بافتی تراوش شده زیر و روی پوست درخت می‌تواند اولین نشانه قابل مشاهده برای شناسایی درختان بیمار باشد. کوچک شدن و زرد شدن برگ‌ها، تنک شدن تاج، کاهش رشد شاخه‌ها و نهایتاً مرگ شاخه‌ها، رنگ پریدگی و سفید شدن برون چوب در محدوده زخم، خروج شیرابه‌های سیاه رنگ و جدا شدن پوست تنه و شاخه‌ها در محل عفونت و حضور سوسک‌های پوستخوار و چوبخوار بلوط از نشانه‌های مهم گسترش بیماری در درختان بلوط می‌باشد. علاوه بر این با افزایش سطح و عمق زخم‌های ایجاد شده توسط سوسک‌های پوستخوار و چوبخوار از جمله *Megopis scabricornis* Scopoli شتاب خسارت بیشتر می‌گردد زیرا در انتشار بیماری و انتقال بیمارگرها نقش دارند (Mirabolfathy 2013, Jozeyan et al. 2016).

۳-بیمارگرها

بیماری پوسیدگی ذغالی بلوط توسط دو قارچ ایجاد می‌شود.

۱- *Biscogniauxia mediterranea* (De Not) O. Kuntze

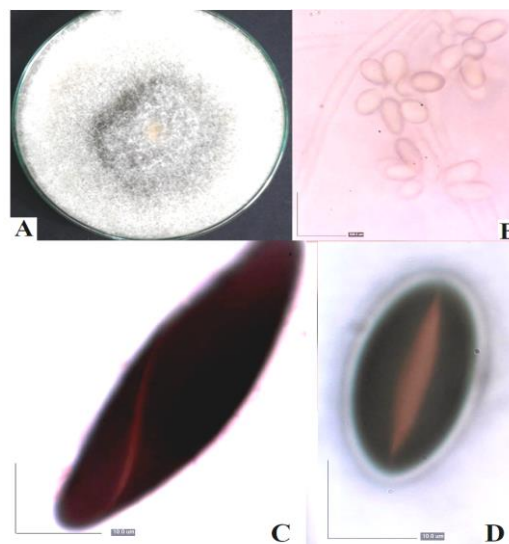
استروما نامسطح، سیاه، دارای ضخامت ۰/۷-۱ میلی‌متر و بلافاصله در زیر سطح و در بین آن‌ها پریتسیوم‌ها قرار دارند (شکل ۱، B). استروما ابتدا کاملاً توسط پوست خارجی درخت پوشیده می‌باشد اما به تدریج و با پدید آمدن شکاف و کنده شدن پوست خارجی، استروما نمایان می‌شود که در این حالت لایه خارجی استروما باقی می‌ماند (Safaei et al. 2016). پریتسیوم‌ها به قطر ۰/۱۸-۰/۱۵ و طول ۰/۵۶-۰/۵۱ میلی‌متر می‌باشند. دهانه پریتسیوم‌ها بالاتر از سطح استروما قرار دارد. آسک استوانه‌ای شکل، دارای ۸ اسپور و دارای دهانه آمیلوبیدی می‌باشد. آسکوسپور قهوه‌ای روشن تا تیره، تک سلولی، بیضی شکل، ۵/۶-۷/۲ × ۱۲/۸-۱۶ میکرومتر در دو انتها گرد و دارای خط تندش صاف است (شکل ۲، D) (Ju and Rogers 2001).

کنیدیوم‌برها منشعب، در قسمت انتهایی که به ۵-۲ سلول کنیدیوم‌زا منتهی شده به اندازه ۴-۳ × ۵۰-۸۵ میکرومتر می‌باشند. کنیدیوم‌ها شفاف، منفرد، تک سلولی و به اندازه ۳-۲ × ۳-۶ هستند (شکل ۲، B) (Ghasemi-Esfahlan et al. 2016).

این قارچ مهمترین عامل بیماری در کشورهای حوزه مدیترانه است (Franceschini et al. 2004). جورس و ارگیس (۲۰۰۶) با تحقیق روی جنگل بلوط، گونه *Q. cerris* L. عامل بیماری را *B. mediterranea* var. *microspore* معرفی کرده‌اند (Jurc and Ogris 2006). میرابوالفتحی و همکاران (۲۰۱۱) نیز این قارچ را به‌عنوان عامل بیماری پوسیدگی ذغالی بلوط در استان گلستان روی بلندمازو (*Q. castaneifolia* Murrill)، در زاگرس روی بلوط ایرانی (*Q. brantii* Lindl) و روی درختان آزاد (*Zelkova carpinifolia* (Pall.)) (K.Koch معرفی نموده‌اند (Mirabolfathy et al. 2011).

۲- *Obolarina persica* M. Mirabolfath

میرابوالفتحی و همکاران (۲۰۱۳) این قارچ را به‌عنوان عامل ایجاد پوسیدگی ذغالی درختان بلوط ایرانی (*Quercus brantii* Lindl.) معرفی نموده‌اند (Mirabolfathy et al. 2013). استروما نامسطح، سیاه به ضخامت یک میلی‌تر، ابتدا کاملاً توسط پوست خارجی درخت پوشیده می‌باشد اما به تدریج و با پدید آمدن شکاف پوست خارجی، استروما نمایان می‌شود و لایه مذکور همراه با قسمت فوقانی دهانه پریتسیوم‌ها و لایه پوست خارجی درخت از روی استروما جدا می‌شود به‌طوری که دهانه پریتسیوم‌ها به صورت سوراخ‌های ریزی در سطح استروما دیده می‌شوند (Safaei et al. 2015). پریتسیوم‌ها استوانه‌ای شکل و دارای قطر ۰/۱ - ۰/۵ میلی‌متر و طول ۱ میلی‌متر می‌باشند و دهانه پریتسیوم پایین‌تر از سطح استروما قرار دارد. آسکوسپور قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره، تک‌سلولی و بیضی شکل دارای ابعاد ۵/۶ - ۷/۲ × ۱۲/۸ - ۱۶ میکرومتر در دو انتها نوک تیز و دارای خط تندش مورب و اس‌شکل بوده که دور بدنه اسپور ادامه یافته است (شکل ۲، C) (Mirabolfathy et al. 2013, Pouzar 1986).



شکل ۲- A) پرگنه *Biscogniauxia mediterranea*، B) کنیدیومهای *B. mediterranea*، C) آسکوسپور *Obolarina persica*، D) آسکوسپور *B. mediterranea* (اصلی)

Figure 2. A) Colony of *Biscogniauxia mediterranea*, B) Conidia of *B. mediterranea*, C) Ascospores of *Obolarina persica*, D) Ascospores of *Biscogniauxia mediterranea*

۴- چرخه بیماری

بیمارگرها در چرخه زندگی خود دارای یک مرحله پنهان درون‌رستی، یک مرحله انگلی و در نهایت یک مرحله رشد گندرویی هستند. آنها به صورت درون‌رست در اندام‌های مختلف میزبان از قبیل چوب، پوست، جوانه، سرشاخه و برگ بدون ایجاد نشانه زندگی می‌کند و حضور آنها در گیاهان فاقد نشانه در پاییز بیشتر از بهار و تابستان است (Vannini et al. 2009, Jurc and Ogris 2006). دارا بودن فاز درون‌رستی و بقا در میزبان سالم یک روش مهم برای بقا و پایداری این بیمارگرها به حساب می‌آید. وقتی میزبان تحت تأثیر تنش‌های محیطی (تغییر اقلیم، افزایش دما و کاهش نزولات جوی) قرار می‌گیرد، تغییر فاز بیمارگر از مرحله درون‌رستی به مرحله بیمارگری صورت می‌گیرد و به سرعت بافت‌های میزبان را کلنیزه کرده و تخریب می‌نماید (Linaldeddu et al. 2011). قارچ عامل بیماری بعد از حمله، پوست داخلی و آوندهای چوبی را نکروز نموده و ترشحات سیاه رنگ از پوست بیرونی خارج می‌گردد. آنها تولید تعدادی متابولیت سمی مانند بیسکوپیران، اسید فنیل استیک و ۵-متیل ملنین می‌کنند (Linaldeddu et al. 2011). روی بافت‌های آلوده، زخمهای ذغالی رنگ که توسط استرومای سیاه رنگ قارچ پوشیده شده‌اند ایجاد می‌شود این مرحله شامل مرحله گندرویی قارچ روی بافت‌های مرده است که به دلیل تولید تعداد زیادی از زادمایه‌ها (آسکوسپورها و کنیدیوم‌ها)، زیست توده قارچ افزایش می‌یابد (Capretti and Battisti 2007). عواملی مانند باد، آب و حشرات باعث پخش زادمایه‌های قارچ عامل پوسیدگی ذغالی می‌شوند. اگرچه باد عامل اصلی در انتشار بیماری است اما یک دوره متوالی سه روزه بارندگی، به میزان بیش از نیم میلی‌متر، جهت آزاد شدن آسکوسپورها لازم است. آسکوسپورهای قارچ پوسیدگی ذغالی، آلوده کننده اولیه برای ایجاد بیماری هستند که دمای بهینه برای جوانه‌زنی آنها ۳۵ درجه سلسیوس است، اما در ۲۵ و ۳۰ درجه سلسیوس هم جوانه می‌زند. جوانه‌زدن آسکوسپورها روی بافت‌های آسیب دیده به مراتب بهتر از بافت‌های سالم صورت می‌گیرد (Vannini et al. 1996). زیرا اسپورها از طریق زخم‌های روی درخت نفوذ کرده و در بافت‌های ساقه درخت رشد می‌کند که همزمان با پیشرفت بیماری برگ‌ها قهوه‌ای رنگ شده و خشکیدگی سرشاخه‌ها اتفاق می‌افتد و به ناحیه تنه سرایت کرده و ایجاد شانکر در محل تنه ممکن است منجر به مرگ کامل درخت گردد (Magaglia et al. 2001). همزمان با مرگ شاخه‌ها و تنه در زیر پوست بافت استرومای بالشتکی شکل و تیره رنگ قارچ توسعه پیدا خواهد کرد که در اثر رشد آن و فشار ایجاد شده، پوست در محل بافت استرومایی ترک خواهد برداشت و به صورت نواری از تنه جدا می‌شود و بافت استرومایی در معرض دید واقع می‌شود که در داخل این بافت استرومایی پریتیسیموم‌های عامل بیماری تشکیل می‌شوند (Mirabolfathy 2013). چندین حشره در انتشار عامل بیماری دخالت دارند که نه تنها به عنوان ناقلان مایه تلقیح بلکه به عنوان ایجاد کنندگان زخم در بافت‌های میزبان که مکان‌های نفوذ بیمارگر هستند حایز اهمیت‌اند از ناقلان حشره‌ای می‌توان به *Henrique et al. (2014)*. حساسیت به بیماری با وقوع بحران‌های خشکسالی و آتش‌سوزی در جنگل‌های بلوط مرتبط است. وقتی میزبان تحت تنش کم آبی واقع شود عامل بیماری از طریق بافت‌های آوندی وارد شده و بافت‌های چوب و پوسته را کلنیزه کرده که ممکن است منجر به مرگ میزبان در طول یک فصل رویشی شود (Vannini and Valentine 1994). انتقال قارچ از طریق بذر و نهال‌های پژمرده مورد آزمایش قرار گرفته شد و مشاهده شد که *B. mediterranea* در دانه وجود داشته اما در نهال دیده نشده است (Henriques et al. 2014).

آسکوسپورها به عنوان منبع اولیه ایجاد بیماری عمل می‌کنند، که بارش باران‌های مداوم باعث خروج آسکوسپورها و رطوبت بالا باعث جوانه‌زدن آنها می‌شود اما در مرحله درون‌رستی پتانسیل آبی پایین بستر، شرایط رشد و توسعه قارچ را هموار می‌سازد. آسکوسپورها در سطح زخمی سریعتر توسعه یافته و بافت پوست یا پایین شاخه و چوب را آلوده ساخته و می‌پوشانند (Vannini and Valentine 1994). یکی از راه‌های ورود آلودگی کانال‌های لاروهای سوسک‌های *Cerambyx* spp. باشد (Martin et al. 2005). سرعت بالای تولید مثل جنسی و سیستم آمیزشی هتروتالیک این قارچ، بیانگر یک منبع داخلی مهم تنوع ژنتیکی جمعیت است. حضور ژنوتیپ‌های متعدد در یک لکه و هتروتالیک بودن قارچ باعث می‌شود که جدایه‌های تیپ آمیزشی مقابل هم آمیزش کرده و به صورت جنسی تولیدمثل کنند. تولیدمثل جنسی زیاد باعث نوترکیبی فراوان و افزایش سازگاری تکاملی می‌شود (Linde et al. 2002). آلودگی به وسیله ژنوتیپ‌های مختلف می‌تواند در زمان‌های متفاوتی در چرخه زندگی میزبان اتفاق بیافتد و باعث حفظ قارچ به صورت درون رست می‌شود. با این وجود وقتی میزبان در معرض تنش قرار بگیرد کلونیزه کردن بافت‌ها و تولیدمثل در یک زمان از همه نقاط آلودگی شروع می‌شود چنین رفتاری نشان می‌دهد که این قارچ به‌عنوان یک پارازیت ضعیف در نظر گرفته می‌شود اما قادر است درختان بزرگ را در یک دوره کوتاه از بین ببرد (Vannini et al. 1996). تنوع زیاد جمعیت *B. mediterranea* باعث همه‌گیری سریع بیماری می‌شود زیرا قارچ را با انعطاف‌پذیری ژنتیکی برای بقای طولانی مدت و سازگاری با محیط همراه می‌کند (Mirabolfathy 2013).

۵- دامنه میزبانی بیماری

قارچ *B. mediterranea* به‌عنوان عامل مخرب و ویرانگر گونه‌های مختلف بلوط می‌تواند بسیار سریع انتشار یافته و با توجه به اهمیت جنگل‌های زاگرس سبب مرگ درختان بلوط گردد. بیماری پوسیدگی ذغالی روی گونه‌های مختلف بلوط شامل *Q. cerris* L., *Q. pubescens* Willd., *Q. frainetto* Ten. ایجاد خسارت می‌کند (Jurc and Ogris 2006, Ragazzi et al. 2012). اما با این وجود خسارت بیماری روی *Quercus* *suber* به مراتب بیشتر است (Mazzaglia et al. 2001). گونه‌های مختلف *Biscogniauxia* روی راش، نوفانگوس و اکالیپتوس (Henriques et al. 2012) شاه‌بلوط (Spooner 1986)، *B. rosacearum* sp. nov. روی هلو، آلو و به در جنوب ایتالیا گزارش شده‌اند (Raimondo et al. 2016).

پژوهش در مورد دامنه میزبانی *B. mediterranea* در جنگل‌های زاگرس نشان داده که بیماری پوسیدگی ذغالی تنها روی *Q. brantii* Lindl و *Q. infectoria* Oliv مشاهده می‌شود (Safaei et al. 2017). لکه‌های نکروز وسیعی روی شاخه‌های بریده درختان جنگلی توسط قارچ *B. mediterranea* روی درختان جنگلی *Pistacia* sp., *C. microcarpa*, *A. monspessulanum*, *Amygdalus* sp. با طولی حدود ۱۵ سانتی‌متر در شرایط آزمایشگاهی ایجاد می‌گردد اما روی دو درخت *Crataegus* sp., *Ulmus* sp. هیچ لکه نکروزی مشاهده نگردید (Safaei et al. 2015).

۶- مدیریت بیماری

موثرترین روش در مدیریت این بیماری پیشگیری است. شیوع این بیماری با تضعیف درخت همراه بوده و از بهترین روش‌های مدیریت آن، می‌توان به انجام عملیات‌های صحیح پرورشی برای بهبود قدرت درخت اشاره نمود، از جمله این عملیات استفاده از کودهای مناسب بر اساس آزمون خاک، هرس کردن، پرهیز از کاشت و

یا انهدام سایر گونه‌های گیاهی میزبان، جلوگیری از بی‌ثباتی خاک (کوبیدگی و شخم‌زدن)، جلوگیری از زخمی شدن درختان، آبیاری دره‌های گرم و خشک، کوددهی، جلوگیری از چرای دام، ضدعفونی ابزارآلات استفاده شده برای انجام عملیات بهداشتی نام برد (Clarissa and Alan 2014).

پاشیدن قارچ‌کش جذبی پروپیکونازول یا سوسپانسیون هاگ‌های قارچ *Trichoderma harzianum* روی طوقه درختان به محض بروز نشانه‌های بیماری و زخم‌ها می‌تواند به بهبود آن‌ها کمک کند. مبارزه با سوسک‌های شاخک بلند و هرس شاخه‌های خشکیده که لاروهای این سوسک‌ها در آن مستقر هستند برای مدیریت بیماری توصیه می‌گردد (Rostamian et al. 2017). بررسی تأثیر قارچ‌کش‌های متالاکسیل، مانکوزب، کوپراکسی کلراید، پروپیکونازول و کاربندازیم با غلظت‌های مختلف بر جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها و رشد میسلیمی جدایه‌های قارچ *B. mediterranea* در شرایط درون شیشه نشان داده که قارچ‌کش کاربندازیم و پروپیکونازول بالاترین درصد بازدارندگی را در میان قارچ‌کش‌ها دارند (Karami et al. 2015). در پژوهشی، حساسیت ۱۵ جدایه *Biscogniauxia mediterranea* از درختان بلوط جدا شده از استان ایلام نسبت به اسانس‌های گیاهی آویشن، نعناع، زنیان، رزماری و قارچ‌کش آزوکسی استروبین انجام شده است. یافته‌ها نشان داد که با افزایش غلظت‌های اسانس و قارچ‌کش، میزان بازدارندگی از رشد قارچ افزایش یافت. اسانس آویشن و زنیان در غلظت ۲۰۰ میکرولیتر به طور کامل از رشد رویشی قارچ بازدارندگی نمودند در حالی که اسانس‌های نعناع و رزماری و نیز قارچ‌کش آزوکسی استروبین تأثیر مناسبی در بازدارندگی از رشد قارچ نداشتند. بنابراین اسانس‌های آویشن و زنیان برای مدیریت بیماری قابل توصیه می‌باشند، اما اسانس‌های رزماری و نعناع و قارچ‌کش آزوکسی استروبین تأثیر مناسبی ندارند (Kavosi et al. 2018).

نتیجه‌گیری

بیماری پوسیدگی ذغالی بلوط به عنوان یک تهدید بالقوه برای زوال جنگل‌های بلوط ایران مطرح می‌باشد. در سال‌های اخیر بیماری در جنگل‌های زاگرس حالت همه‌گیری پیدا کرده و در حال گسترش به بسترهای جغرافیایی جدید می‌باشد. بیماری را با تقویت درختان بلوط با آبیاری و کوددهی در اواخر بهار و اوایل تابستان و سمپاشی با قارچ‌کش کاربندازیم یا پروپیکونازول به محض مشاهده نشانه‌های بیماری می‌توان مدیریت کرد.

References

منابع

۱. صدروی م، مرادی ن (۱۳۹۶) چهار بیماری مهم بلوط در ایران. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۶(۲): ۲۳-۱۴.
2. Amal HA, Debbab A, Proksch P (2011) Fungal endophytes: unique plant inhabitants with great promises. Applied Microbiology and Biotechnology 90:1820-1845.
3. Capretti P, Battisti A (2007) Water stress and insect defoliation promote the colonization of *Quercus cerris* by the fungus *Biscogniauxia mediterranea*. Forest Pathology 37:129-135.
4. Fortini P, Viscosi V, Maiuro L, Fineschi S, Vendramin GG (2009) Comparative leaf surface morphology and molecular data of 5 oaks of subgenus *Quercus oersta* (Fagaceae). Plant Biosystems 143:543-554.

5. Franceschini A, Linaldeddu BT, Pisanu P, Pisanu S (2004) Effects of water stress on endophytic incidence of *Biscogniauxia mediterranea* in cork oak trees. Journal of Plant Pathology 86:319-320.
6. Ghasemi-Esfahlan S, Arzanlou M, Babai-Ahari A (2016) Detection of *Biscogniauxia mediterranea*, the causal agent of charcoal rot disease on oak trees in Arasbaran forests and evaluation of its pathogenicity on oak under glasshouse conditions. Iranian Journal of Plant Pathology 52:217-230. (In Persian with English Abstract).
7. Henriques J, Barrento MJ, Bonifácio L, Gomes AA, Lima A, Sousa E (2014) Factors affecting the dispersion of *Biscogniauxia mediterranea* in Portuguese cork oak stands. Silva Lusitana 22:83-97.
8. Henriques J, Lurdes IM, Lima A, Sousa E (2012) New outbreaks of charcoal canker on young cork oak trees in Portugal. Integrated Protection in oak Forests. IOBC-WPRS Bulletin 76:85-88.
9. Hosseini A, Hosseini SM, Rahmani A, Azadfar D (2012) Effect of tree mortality on structure of Brant's oak (*Quercus brantii*) forests of Ilam province of Iran. Iranian Journal of Forest and Poplar Research 20:565-577. (In Persian with English Abstract).
10. Jozeyan A, Vafaei-Shoshtari R, Askari H (2016) Investigation of oak woodpecker beetles and their natural enemies in the forests of Ilam Province. Iranian Journal of Forest and Range Protection Research 14:107-121. (In Persian with English Abstract).
11. Ju YM, Rogers JD (2001) New and interesting *Biscogniauxia* taxa, with a key to the world species. Mycological Research 105:1123-1133.
12. Ju YM, Rogers JD, Martin FS, Granmo A (1998) The Genus *Biscogniauxia*. Mycotaxon 66:1-98.
13. Jurc D, Ogris N (2006) First reported outbreak of charcoal disease caused by *Biscogniauxia mediterranea* on Turkey oak in Slovenia. Plant Pathology 55:299.
14. Karami J, Kvosi MR, Babanezhad M (2015) Spatial pattern and disease severity of charcoal canker in Hyrcanian forests, North of Iran. Journal of Forest Science 61:261-267. (In Persian with English Abstract).
15. Karami J, Kvosi, MR (2016) Occurrence of Charcoal disease (*Biscogniauxia mediterranea*) in oak forests. Journal of Conservation and Utilization of Natural Resources 5:53-72. (In Persian with English Abstract).
16. Karimi M, Fallah A (2017) Analysis of spatial pattern and interactions between Persian oak and Baneh in Qlagh forests of Kermanshah using K2 function. Journal of Ecology of Forests of Iran 5: 8-16. (In Persian with English Abstract).
17. Kavosi R, Yavarian R, Mohamadzade A, Karamiv J (2018) The effect of biological compounds and fungicides to combat *Biscogniauxia mediterranea* causal agent of Charcoal disease in vitro. Journal of Forest Research and Development 3:343-360. (In Persian with English Abstract).

18. Linaldeddu BT, Sirca C, Spano D, Franceschini A (2011) Variation of endophytic cork oak-associated fungal communities in relation to plant health and water stress. *Forest Pathology* 41:193-201.
19. Linde CC, Zhan J, McDonald BA (2002) Population structure of *Mycosphaerella graminicola*: from lesions to continents. *Phytopathology* 92:946-955.
20. Manion PD (1991) *Tree Disease Concepts*. Prentice-Hall. Englewood Cliffs, New Jersey, 402p.
21. Martin J, Cabezas J, Buyolo T, Paton D (2005) The relationship between *Cerambyx* spp. damage and subsequent *Biscogniauxia mediterranea* infection on *Quercus suber* forests. *Forest Ecology and Management* 216:166-174.
22. Mazzaglia A, Anselmi N, Gasbarr A, Vannini A (2001) Development of a Polymerase Chain Reaction (PCR) assay for the specific detection of *Biscogniauxia mediterranea* living as an endophyte in oak tissues. *Mycological Research* 105:952-956.
23. Mirabolfathy M (2013) Outbreak of charcoal disease on *Quercus* spp and *Zelkova carpinifolia* trees in forests of Zagros and Alborz mountains in Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 49:77-79.
24. Mirabolfathy M, Groenewald JZ, Crous PW (2011) The occurrence of charcoal disease caused by *Biscogniauxia mediterranea* on chestnut-leaved oak (*Quercus castaneifolia*) in the Golestan forest of Iran. *Plant Disease* 95:876-876.
25. Mirabolfathy M, Ju Y, Hsieh H, Rogers JD (2013) *Obolarina persica* sp. nov., associated with dying *Quercus* in Iran. *Mycoscience* 54:315-320.
26. Nugent LK, Sihanonth P, Thienhirun S, Whalley AJS (2005) *Biscogniauxia*: a genus of latent invaders. *Mycologist* 19:40-43.
27. Parsaeian M, Mirlohi AF, Rezaie AM, Khayam nekoie M (2007). The effect of endophytic fungi on physiological characteristics and cold tolerance of two species of meadow fescue and tall fescue. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources* 10:197-212. (In Persian with English Abstract).
28. Pouzar Z (1986) A key and conspectus of Central European species of *Biscogniauxia* and *Obolarina* (Pyrenomycetes). *Ceska Mykologi* 40:1-10.
29. Ragazzi A, Ginetti B, Moricca S (2012) First report of *Biscogniauxia mediterranea* on English Ash in Italy. *Plant Disease* 96: 1694-1694.
30. Raimondo MM, Lops F, Carlucii A. 2016. Charcoal canker of pear, plum and quince trees caused by *Biscogniauxia rosacearum* sp. nov. in southern Italy. *Plant Disease* 100:1831-1822.
31. Rostamian M, Kavosi MR, Bazgir E, Babanezhad M (2017) Charcoal diseases (*Biscogniauxia mediterranea*) control using biological and chemical compounds in vitro. *Imperial Journal of Interdisciplinary Research* 3:1960-1968.
32. Sadravi M, Moradi N (2017) Four important oak diseases in Iran. *Plant Pathology Science* 6(2):14-23.
33. Safaee D, Khodaparast SA, Mirabolfathy M, Mousanejad S (2015) Comparison of excised twig with seedling to assay the pathogenicity of *Biscogniauxia*

- mediterranea* on Persian oak (*Quercus brantii*) seedlings. Proceeding of 2th Iranian Mycological Congress, University of Tehran, P.52. (In Persian with English Abstract).
34. Safae D, Khodaparast SA, Mirabolfathy M, Mousanejad S (2016) Relationship between dieback of Persian oak (*Quercus brantii*) and apparent and latent infection of *Biscogniauxia mediterranea* in Zagros forests. Iranian Journal of Plant Pathology 52:535-549.
35. Safae D, Khodaparast SA, Mirabolfathy M, Sheikholeslami M (2017) Some aspects of biology and host range of *Biscogniauxia mediterranea*, one of the causal agent of oak charcoal disease. Mycologia Iranica 4:121-129.
36. Schwarz M, Kopcke B, Weber RWS, Sterner O, Anke H (2004) 3-Hydroxypropionic acid as a nematicidal principle in endophytic fungi. Phytochemistry 65:2239-2245.
37. Smahi H, Belhoucine L, Bouhraoua R (2014) Preliminary observations on the spread of “charcoal canker” disease in an artificial cork oak stand in Algeria. IOBC-WPRS Bulletin 101:103-108.
38. Spooner BM (1986) New or rare British microfungi from Esher Common, Surrey. Transactions of the British Mycological Society 86:401-408.
39. Vannini A, Lucero G, Anselmi N, Vettraino AM (2009) Response of endophytic *Biscogniauxia mediterranea* to variation in leaf water potential of *Quercus cerris*. Forest Pathology 39:8–14.
40. Vannini A, Paganini R, Anselmi N (1996) Factors affecting discharge and germination of ascospores of *Hypoxylon mediterraneum* (De Not.) Mill. European Journal of Forest Pathology 26:12-24.
41. Vannini A, Valentini R (1994) Influence of water relations in *Quercus cerris*–*Hypoxylon mediterraneum* interaction: a model of drought induced susceptibility to a weakness parasite. Tree Physiology 14:129-139.



Research Article

Impact of six essential oils on strawberry gray mold

NASSER BEIKZADEH✉, HAMID AFZALI

Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center,
AREEO, Mashhad, Iran

Received: 05.07.2020

Accepted: 22.09.2020

Beikzadeh N, Afzali H (2020) Impact of six essential oils on strawberry gray mold. Plant Pathology Science 9(1):129-140. DOI: 10.2982/PPS.9.1.129.

Abstract

Introduction: Gray mold caused by *Botrytis cinerea* is the most important disease after strawberry fruit harvest. The use of chemical fungicides can have a negative effect on the health of consumers, so the use of plant essential oils for disease management has been considered. The effect of six plant essential oils on the pathogen and the contamination of strawberry fruits was investigated in this research to identify suitable essential oil to control the disease. **Materials and Methods:** The pathogen was isolated from infected strawberry fruits in northeastern Iran. The inhibitory effect of different concentrations of peppermint, savory, caraway, cumin, eucalyptus and thyme essential oils on mycelial growth and germination of the pathogen spores was tested by mixing them with culture medium. Then, the effect of these essential oils in liquid and vapor phases on the contamination of strawberry fruits was tested. After normalization, the data of these experiments were analyzed by analysis of variance with MSTAT-C software and the means were compared with Duncan test. **Results:** Essential oils of caraway and eucalyptus had the greatest effect in inhibiting the growth of pathogen mycelium. Essential oils of caraway, cumin, savory, thyme and peppermint had the greatest effect in inhibiting the germination of pathogen spores. The essential oils of caraway, cumin, savory, thyme and peppermint in the vapor phase, the essential oils of caraway and eucalyptus in the liquid phase, prevented further contamination of the fruit. **Conclusion:** The findings of this study show that all of these plant essential oils can significantly prevent the growth of mycelium and germination of pathogen spores and contamination of strawberry fruits, but the effect of caraway essential oil in most cases is better than others. Thus, it can be used as an alternative to fungicides on strawberry fruit.

Key words: Inhibition, Plant essential oil, Caraway, Eucalyptus, *Botrytis*

✉ Corresponding author: beikzadeh@gmail.com

مقاله پژوهشی

اثر شش اسانس گیاهی بر کپک خاکستری توت‌فرنگی

ناصر بیک‌زاده[✉]، حمید افضلی

مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی،

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران

پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۰۱

دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۱۵

بیک‌زاده ن، افضلی ح (۱۳۹۸) اثر شش اسانس گیاهی بر کپک خاکستری توت‌فرنگی. دانش بیماری‌شناسی گیاهی ۹(۱): ۱۴۰-۱۲۹.
DOI: 10.2982/PPS.9.1.129.

چکیده

مقدمه: کپک خاکستری که عامل آن *Botrytis cinerea* است، مهم‌ترین بیماری پس از برداشت میوه توت‌فرنگی است. استفاده از قارچ‌کش‌های شیمیایی می‌تواند تاثیر سویی بر سلامت مصرف کنندگان داشته باشد، بنابراین کاربرد اسانس‌های گیاهی برای مدیریت بیماری مورد توجه قرار گرفته است. اثر شش اسانس گیاهی بر بیمارگر و آلودگی میوه‌های توت‌فرنگی در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفتند، تا اسانس مناسب برای مبارزه با بیماری شناسایی شود. **مواد و روش‌ها:** بیمارگر از میوه‌های توت‌فرنگی آلوده در شمال شرق ایران، جداسازی و شناسایی شد. اثر بازدارندگی غلظت‌های مختلف اسانس‌های نعنای فلفلی، مرزه، زیره سیاه، زیره سبز، اکالیپتوس و آویشن از رشد میسلیوم و جوانه‌زنی هاگ بیمارگر به روش مخلوط کردن آنها با محیط کشت آزمایش شدند. سپس تاثیر این اسانس‌ها در فازهای مایع و بخار، بر میزان آلودگی میوه‌های توت‌فرنگی آزمایش شدند. داده‌های این آزمایش‌ها بعد از نرم‌سازی با نرم افزار MSTAT-C، تجزیه واریانس شده و میانگین‌ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. **یافته‌ها:** اسانس‌های زیره سیاه و اکالیپتوس بیشترین تاثیر در بازدارندگی از رشد میسلیوم بیمارگر داشتند. اسانس‌های زیره سیاه، زیره سبز، مرزه، آویشن و نعنای فلفلی بیشترین تاثیر در بازدارندگی از جوانه‌زنی هاگ بیمارگر داشتند اسانس‌های زیره سیاه، زیره سبز، مرزه، آویشن و نعنای فلفلی در فاز بخار، اسانس‌های زیره سیاه و اکالیپتوس در فاز مایع، بیشتر از آلودگی میوه جلوگیری کردند. **نتیجه‌گیری:** یافته‌های این پژوهش نشان داد که همه این اسانس‌ها به طور معنی‌داری می‌توانند از رشد میسلیوم و جوانه‌زنی هاگ بیمارگر و آلودگی میوه‌های توت‌فرنگی جلوگیری کنند، ولی تاثیر اسانس زیره سیاه در بیشتر موارد بهتر از سایرین است. بنابراین از آن می‌توان به عنوان جایگزین قارچ‌کش‌ها روی میوه توت‌فرنگی استفاده کرد.

واژگان کلیدی: بازدارندگی، اسانس گیاهی، زیره سیاه، اکالیپتوس، *Botrytis*

Introduction

مقدمه

کپک خاکستری ناشی از *Botrytis cinerea* Pers.:Fr.، مهم‌ترین بیماری پس از برداشت میوه توت‌فرنگی است، که باعث خسارت اقتصادی می‌شود (Elad et al. 2016, Williamson et al. 2007, Zhang et al. 2007). قارچ‌کش‌های شیمیایی متعددی مانند بنزیمیدازول‌ها برای مهار بیماری‌های پس از برداشت گیاهان

[✉] beiczadeh@gmail.com : مسئول مکاتبه

معرفی شده‌اند (Hou et al. 2020)، اما اغلب به‌علت سمیت آنها برای مصرف‌کنندگان، امکان آلودگی محیط زیست، ظهور بیمارگرهای مقاوم به آنها و هزینه بالا، استفاده از آنها مخصوصاً روی میوه‌هایی که به صورت تازه مصرف می‌شوند (مانند توت‌فرنگی)، توصیه نمی‌شوند (Holmes and Eckert 2017, Mbili et al. 2017, Behdani et al. 2012, Abd-Alla et al. 2011, Rahemi 2010, 1999). استفاده از اسانس‌های گیاهی به عنوان یک روش جایگزین کاربرد قارچکش‌ها، برای مدیریت بیماری‌های پس از برداشت در سال‌های اخیر پیشنهاد شده و پژوهش‌های زیادی در ایران و سایر کشورها در مورد آنها انجام شده است (Salehi et al. 2005, Asghari Marjanlo et al. 2009, Hasani et al. 2009, Mohammadi 2011, Aminifard and Mohammadifar et al. 2012, Behdani et al. 2012, Aminifard and Mohammadi 2013, Salek Mearaji et al. 2015, Liu et al. 2016, Behnamian et al. 2017, Mbili et al. 2017, Aliaran et al. 2018, Bergmann and Dole 2018, Mziouid et al. 2018, Palfi et al. 2019, Hou et al. 2020, Reang et al. 2020). پژوهش‌ها نشان داده‌اند که بعضی اسانس‌های گیاهی دارای خاصیت قارچ‌کشی یا باکتری‌کشی هستند (Dorman and Deans 2000, Pandey et al. 2000, Soliman and Badeaa 2002, Palfi et al. 2019). بنابراین، بعضی اسانس‌ها ممکن است جایگزین مناسب سم‌های شیمیایی که در حال حاضر برای مهار بیماری‌های پس از برداشت مورد استفاده قرار می‌گیرند، باشند (Isman 2000, Burt 2004, Liu et al. 2016, Safaei-Farahani and Mostowfizade-Ghalefarsa 2019). اثر شش اسانس گیاهی بر بیمارگر و آلودگی میوه‌های توت‌فرنگی در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفتند، تا اسانس‌های مناسب برای مبارزه با بیماری شناسایی شوند.

Materials and Methods

مواد و روش‌ها

جداسازی بیمارگر

قارچ *B. cinerea* از میوه‌های آلوده توت‌فرنگی که از مزارع توت‌فرنگی در مناطق مشهد، چناران و طرقبه جمع‌آوری شده بودند، جدا و با روش تک‌هاگ، خالص گردید. قارچ بر اساس مشخصات پرگنه روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA)، شکل کنیدیوم‌برها و مشخصات کنیدیوم‌ها با استفاده از کلیدهای معتبرشناسایی شد (Barnett and Hunter 1998, Hennebert 1973, Mirzaei et al. 2007). قارچ در دمای چهار درجه سلسیوس بر روی محیط کشت PDA نگهداری شد. با کشت مجدد میسلیوم این قارچ بر روی محیط کشت PDA و نگهداری در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۷-۳ روز، کشت‌های تازه از این قارچ تهیه شد (Dogu and Zobar 2014). از کشت هفت روزه قارچ برای مطالعه اثر اسانس‌ها استفاده شد (Wang et al. 2010). بیماری‌زایی قارچ نیز بر اساس اصول کخ، مورد بررسی قرار گرفت.

تهیه اسانس‌ها، آماده‌سازی غلظت‌ها و طرح آماری

برای تهیه اسانس از گیاهان مورد آزمایش (آویشن، اکالیپتوس، زیره سیاه، زیره سبز، نعناع فلفلی و مرزه)، از دستگاه کلونجر و با روش تقطیر با آب استفاده شد. ابتدا اندام‌های هوایی خشک گیاهان مورد مطالعه توسط آسیاب پودر گردید. سپس ۱۰۰ گرم از آن به داخل بالن ژوژه دستگاه اسانس‌گیری ریخته و ۷۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و به مدت سه ساعت جریان تقطیر انجام گردید. پس از اتمام اسانس‌گیری، اسانس‌ها در شیشه رنگی ریخته شده و در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شدند (Salehi et al. 2005). به منظور تهیه غلظت‌های مورد نظر، ابتدا از اسانس‌های مورد بررسی در توئین ۸۰ (۰/۰۵ درصد) به عنوان حلال،

امولسیون تهیه شد. سپس جهت تهیه غلظت‌های ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر محیط کشت، مقادیر مناسبی از اسانس‌های مذکور به فلاسک‌های حاوی محیط کشت PDA سترون با دمای ۴۲ تا ۴۵ درجه اضافه و هم زده شد تا یکنواخت شود. در تیمار شاهد (غلظت صفر) به همان میزان، آب و توئین اضافه شد (Behnamian et al. 2017). در بررسی تأثیر اسانس‌ها در فاز بخار و مایع، غلظت اسانس‌ها به جای محیط کشت در آب تهیه شد. همه آزمایش‌های این پژوهش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار برای هر تیمار انجام شدند.

آزمایش تأثیر اسانس‌های گیاهی بر رشد میسیلیوم بیمارگر

محتویات فلاسک‌ها پس از مخلوط شدن کامل با غلظت‌های مختلف اسانس‌های گیاهی، به داخل تشتک‌های پتری سترون منتقل گردیدند. سپس دیسک‌های هشت میلی‌متری از کشت هفت روزه قارچ در وسط این تشتک‌های پتری قرار داده شد و در انکوباتور با دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس نگهداری شدند. این آزمایش با پنج تکرار برای هر تیمار انجام شد. در روزهای متوالی، قطر کلنی‌های قارچ اندازه‌گیری شده و درصد ممانعت از رشد میسیلیوم قارچ با استفاده از فرمول $I=100 \times (C-T/C)$ محاسبه گردید که در آن C مقدار قطر کلنی (میلی‌متر) در شاهد، T نیز مقدار قطر کلنی (میلی‌متر) در تیمار و I درصد بازدارندگی است (Tripathi et al. 2008, Behdani et al. 2012, Dogu and Zobar 2014, Vitoratos et al. 2013, Mbili et al. 2017, Reang et al. 2020).

آزمایش تأثیر اسانس‌های گیاهی بر جوانه‌زنی هاگ بیمارگر

برای بررسی اثر غلظت‌های مختلف اسانس‌ها بر جوانه‌زنی هاگ قارچ، 0.5 میلی‌لیتر از یک سوسپانسیون هاگ (با غلظت 10^4 کنیدی در میلی‌لیتر آب مقطر سترون) تهیه شده از کشت هفت روزه قارچ، روی محیط کشت حاوی غلظت مورد نظر از هر اسانس پخش گردید و در انکوباتور با دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از گذشت حدود ۲۰ ساعت، برای تعیین میزان جوانه‌زنی هاگ، هاگ‌های جوانه‌زده با میکروسکوپ شمارش شدند و درصد بازدارندگی از جوانه‌زنی هاگ‌ها با استفاده از فرمول $I=100 \times (SC-ST/SC)$ محاسبه گردید که در آن SC میانگین تعداد هاگ‌های جوانه‌زده در شاهد و ST نیز میانگین تعداد هاگ‌های جوانه‌زده در تیمار و I درصد بازدارندگی است (Abd-Alla et al. 2011, Aminifard and Mohammadi 2013, Vitoratos et al. 2013, Mbili et al. 2017).

آزمایش تأثیر اسانس‌های گیاهی بر آلودگی میوه توت‌فرنگی در فاز بخار

برای بررسی اثر اسانس‌ها در فاز بخار بر آلودگی میوه‌ها، ابتدا روی میوه‌های سالم توت‌فرنگی که با هیپوکلریت سدیم ۱٪ ضدعفونی شده بودند، با یک سوزن سترون زخم‌هایی ایجاد شد و سپس این میوه‌ها با سوسپانسیون به غلظت 10^6 کنیدیوم در میلی‌لیتر آب مقطر سترون تلقیح شدند. این میوه‌های تلقیح شده، به داخل دسیکاتورهای حاوی غلظت‌های اسانس‌های مورد آزمایش و حلال به عنوان شاهد منتقل گردیدند و به مدت چهار روز در دمای 19 ± 1 درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس درصد جلوگیری از آلودگی میوه‌ها در هر تیمار تعیین شد (Mbili et al. 2017).

آزمایش تأثیر اسانس‌های گیاهی بر آلودگی میوه توت‌فرنگی در فاز مایع

برای بررسی اثر اسانس‌ها به صورت مایع بر آلودگی میوه‌ها، پس از محلول‌پاشی سطح میوه‌های ضدعفونی

شده (با هیپوکلریت سدیم ۱٪) با هر کدام از غلظت‌های اسانس‌ها و حلال به عنوان شاهد، روی سطح میوه‌ها با یک سوزن سترون زخم‌هایی ایجاد شد و سپس این میوه‌ها با سوسپانسیون به غلظت 10^6 کنیدیوم در میلی لیتر آب مقطر سترون تلقیح شدند. میوه‌های تلقیح شده در داخل کیسه‌های پلاستیکی گذاشته شده و به مدت چهار روز در دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس درصد جلوگیری از آلودگی میوه‌ها در هر تیمار تعیین شد.

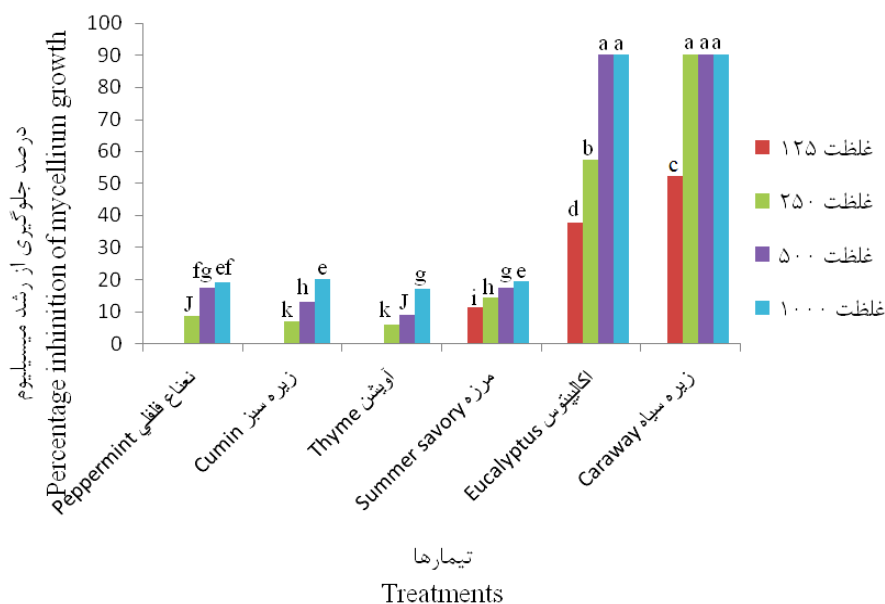
داده‌های بدست آمده از هر آزمایش پس از نرمال‌سازی با روش $X = \arcsin \sqrt{Y}$ (Steel 1997)، با نرم افزار MSTAT-C مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند و میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

Results

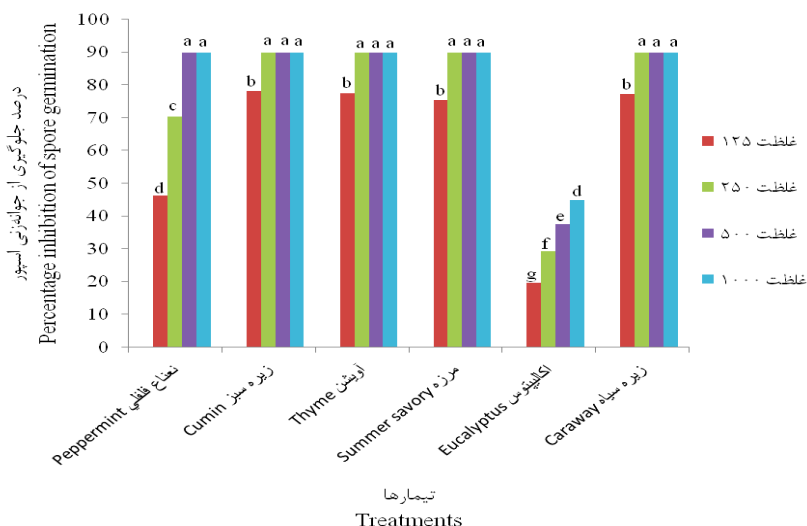
یافته‌ها

با مطالعه خصوصیات پرگنه، کنیدیوم‌بر و کنیدیوم، قارچ *Botrytis cinerea* شناسایی گردید. آزمون بیماری‌زایی این قارچ نیز بر روی میوه‌های توت‌فرنگی، مثبت ارزیابی گردید به طوری که ۴۸ ساعت پس از مایه‌زنی، پوسیدگی کل میوه را در برگرفت و جداسازی مجدد عامل این بیماری از حاشیه بافت سالم و آلوده، بیماری‌زایی آن را اثبات نمود.

آزمایش تأثیر اسانس‌های گیاهی بر رشد میسیلیوم بیمارگر نشان داد که در بین اسانس‌های مورد آزمایش، اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ وجود دارد. اسانس زیره سیاه در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قسمت در میلیون و اسانس اکالیپتوس در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قسمت در میلیون بهترین نتیجه را داشتند (شکل ۱). با توجه به اصل توصیه کم‌ترین غلظت، بهترین غلظت اسانس‌های زیره سیاه و اکالیپتوس به ترتیب غلظت های ۲۵۰ و ۵۰۰ قسمت در میلیون تعیین گردید.

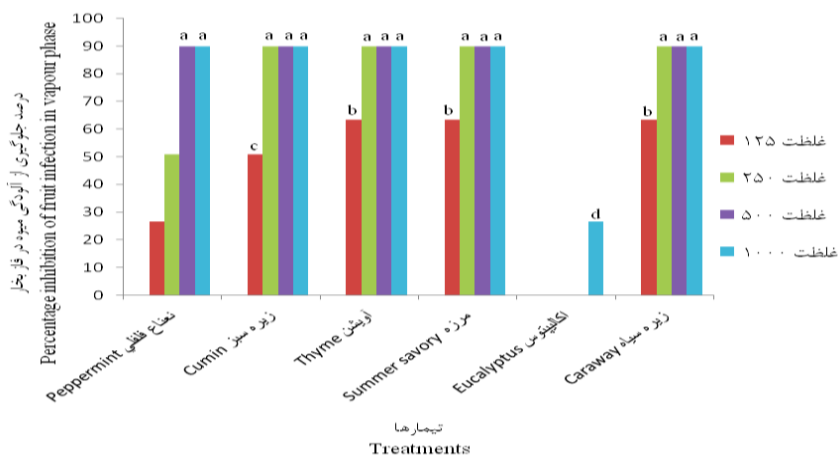


شکل ۱. درصد بازدارندگی از رشد میسیلیوم *Botrytis cinerea* در غلظت‌های مختلف شش اسانس گیاهی
Figure 1. Percentage inhibition of mycelium growth of *Botrytis cinerea* by different concentrations of six plant essential oils



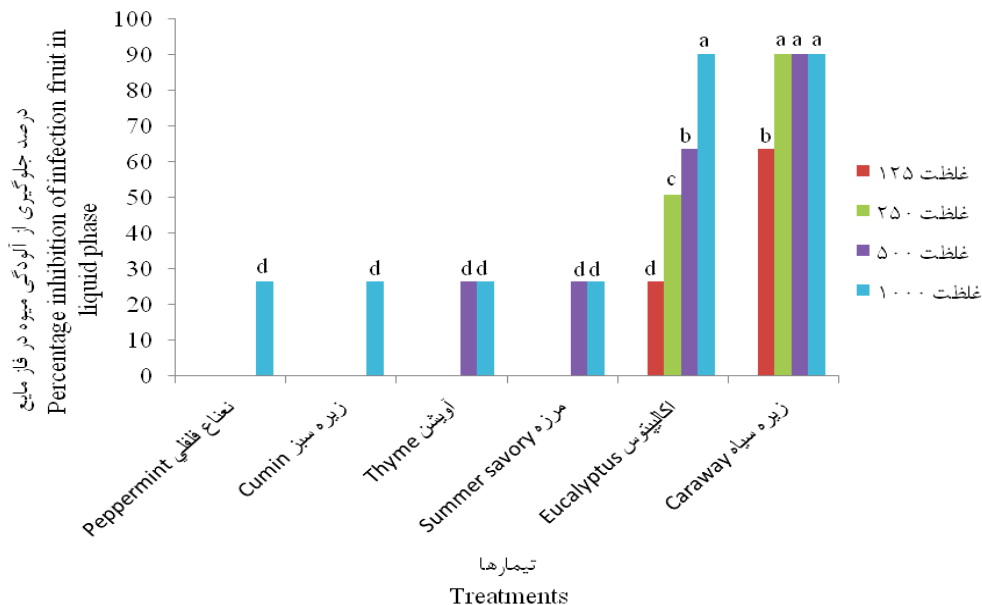
شکل ۲. درصد جلوگیری از جوانه‌زنی هاگ *Botrytis cinerea* در غلظت‌های مختلف شش اسانس گیاهی
Figure 2. Percentage inhibition of spore germination of *Botrytis cinerea* by different concentrations of six plant essential oils.

نتیجه آزمایش تأثیر اسانس‌های گیاهی بر جوانه‌زنی هاگ بیمارگر، حاکی از مؤثر بودن آن‌ها داشت به‌طوری که در تمامی غلظت‌های اسانس‌های مورد آزمایش، اختلاف معنی‌داری با شاهد مشاهده گردید. بهترین اثر بازدارندگی مربوط به اسانس‌های آویشن، مرزه، زیره سیاه و زیره سبز در غلظت ۲۵۰ قسمت در میلیون بود که به طور کامل از جوانه‌زنی هاگ جلوگیری نموده و به همراه غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قسمت در میلیون اسانس‌های نعنای، زیره سبز، آویشن، مرزه و زیره سیاه در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۲).
نتیجه آزمایش بررسی اثر اسانس‌ها بر آلودگی میوه‌ها در فاز بخار در شرایط درون زیوه، نشان دهنده بهترین اثر غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قسمت در میلیون اسانس‌های زیره سبز، آویشن، مرزه و زیره سیاه و نعنای بود (شکل ۳).



شکل ۳. درصد جلوگیری از آلودگی میوه‌های توت‌فرنگی به *Botrytis cinerea* در غلظت‌های مختلف شش اسانس گیاهی در فاز بخار.

Figure 3. Percentage inhibition of strawberry fruit infection by *Botrytis cinerea* in different concentrations of six plant essential oils in vapor phase.



شکل ۴. درصد جلوگیری از آلودگی میوه‌های توت‌فرنگی به *Botrytis cinerea* در غلظت‌های مختلف شش اسانس گیاهی در فاز مایع.

Figure 4. Percentage inhibition of strawberry fruit infection by *Botrytis cinerea* in different concentrations of six plant essential oils in liquid phase.

مقایسه میانگین‌های داده‌های آزمایش تعیین اثر اسانس‌ها در فاز مایع بر آلودگی میوه‌ها در شرایط درون زیوه، نشان داد که غلظت ۱۰۰۰ قسمت در میلیون اسانس اکالیپتوس و غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قسمت در میلیون اسانس زیره سیاه بهترین اثر را داشته و مانع از آلودگی میوه‌های توت‌فرنگی می‌گردند (شکل ۴). با توجه به اصل توصیه کمترین غلظت، بهترین غلظت اسانس‌های زیره سیاه و اکالیپتوس به ترتیب غلظت‌های ۲۵۰ و ۱۰۰۰ قسمت در میلیون تعیین گردید.

Discussion

بحث

اسانس‌های گیاهی به‌نظر می‌رسد که در تحریک سازوکارهای دفاعی گیاهان در برابر عوامل بیماری‌زا، نقش داشته باشند (Mihaliak et al. 1991, Palfi et al. 2019). گزارش‌های متعدد نشان داده‌اند که بعضی اسانس‌های گیاهی در شرایط آزمایشگاهی از بیماری‌های قارچی پس از برداشت جلوگیری می‌کنند (Bishop and Reagan 1998, Reagan 1998, Singh and Tripathi 1999, Bellerbeck et al. 2001, Hidalgo et al. 2002, Liu et al. 2016). پژوهشی نشان داده که اسانس‌های دو گیاه زیره سیاه و نعناع می‌توانند بیماری کپک خاکستری پس از برداشت در میوه آلو را به‌طور موثری مهار کنند و بر این اساس کاربرد این دو اسانس به عنوان روشی جایگزین مبارزه شیمیایی توصیه شده است (Aminifard and Mohammadi 2013).

اثر اسانس شش گیاه در شرایط درون زیوه بر *B. cinerea*، عامل بیماری کپک خاکستری توت‌فرنگی، در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفتند و نشان داده شد که با افزایش غلظت اسانس‌ها، فعالیت ضدقارچی آن‌ها بر علیه این قارچ نیز افزایش می‌یابد. بر اساس این یافته‌ها، فقط اسانس زیره سیاه در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام و اسانس اکالیپتوس در غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ قسمت در میلیون در شرایط درون شیشه

به‌طور کامل از رشد میسلیوم این قارچ جلوگیری کردند. این یافته با یافته پژوهش (Tripathi et al. 2008) که نشان دادند اسانس اکالیپتوس می‌تواند در غلظت ۵۰۰ قسمت در میلیون به طور کامل از رشد *B. cinerea* جلوگیری کند، مطابقت دارد. در بررسی فعالیت ضدقارچی برخی اسانس‌های گیاهان دارویی بر چند قارچ از جمله *B. cinerea*، نشان داده شده که زیره سیاه بیش‌ترین اثر قارچ‌کشی را دارد و می‌تواند به‌طور کامل از رشد این قارچ در غلظت ۴۰۰ قسمت در میلیون جلوگیری کند (Mohammadi and Aminifard 2011, Mohammadifar et al. 2012). اسانس آویشن از قارچ‌های متعددی از جمله قارچ‌های بیماری‌زای پس از برداشت و تولیدکننده توکسین نیز جلوگیری می‌کند (Nguefak et al. 2004, Reddy et al. 1997). با توجه به یافته‌های این پژوهش اسانس زیره سیاه و اکالیپتوس می‌توانند در جلوگیری از رشد این قارچ بیمارگر و مهار بیماری کپک خاکستری توت فرنگی مورد استفاده قرار گیرند. با این حال از آن‌جا که اسانس زیره سیاه ممکن است اثری مثبت بر برخی ویژگی‌های کیفی میوه‌ها داشته باشد و حداقل غلظت بازدارندگی آن کم‌تر از اکالیپتوس است، این اسانس می‌تواند به عنوان جایگزینی برای قارچ‌کش‌های شیمیایی باشد. فعالیت ضد میکروبی اسانس این گیاه به علت وجود کاروون (Carvon)، لیمونن (Limonene)، کارواکرول (Carvacrol) و لینالول (Linalool) می‌باشد که از رشد قارچ‌ها و باکتری‌ها جلوگیری می‌کند (Iacobellis et al. 2005). اسانس‌های گیاهی می‌توانند بدون این که تأثیر قابل توجهی بر کیفیت محصولات انباری داشته باشند، عمر آن‌ها را افزایش دهند (Asghari Marjanlo et al. 2009).

Conclusion

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه نشان دادند که از اسانس‌های آویشن، اکالیپتوس، زیره سیاه، زیره سبز، نعناع فلفلی و مرزه می‌توان برای مدیریت بیماری پوسیدگی خاکستری توت‌فرنگی استفاده کرد. در بین این اسانس‌ها، اسانس زیره سیاه با توجه به اثر بازدارندگی بهتر در شرایط درون زیوه در مقایسه با دیگر اسانس‌ها، برای مهار این بیماری توصیه می‌گردد. اگرچه اسانس اکالیپتوس نیز چنین خاصیتی دارد، ولی این اسانس در غلظت ۱۰۰۰ قسمت در میلیون به صورت مایع اثر بازدارندگی از آلودگی میوه دارد در حالی که اسانس زیره سیاه در غلظت پایین‌تر ۲۵۰ قسمت در میلیون از آلودگی میوه جلوگیری می‌کند.

References

منابع

1. Abd-Alla MA, Abd-El-Kader MM, Abd-El-Kareem F, El-Mohamedy RSR (2011) Evaluation of lemongrass, thyme and peracetic acid against gray mold of strawberry fruits. Journal of Agricultural Technology 7:1775-1787.
2. Aliaran A, Nourollahi K, Shahivand M (2018) Evaluation of antifungal effects of essential oil savory, cinnamon and fennel on the growth of three species of plant pathogenic fungi in vitro. Applied Biology 31:190-206. (In Persian with English Abstract).
3. Aminifard MH, Mohammadi S (2013) Essential oils to control *Botrytis cinerea* in vitro and in vivo on plum fruits. Journal of the Science of Food and Agriculture 93:348-353.
4. Anthony S, Abeyvikrama K, Wilson WS (2003) The effect of spraying essential oils of *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon flexuosus* and *Ocimum basilicum*

- postharvest diseases and storage life of Embul banana. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 78:780-785.
5. Antonov A, Stewart A, Walter M (1997) Inhibition of conidium germination and mycelial growth of *Botrytis cinerea* by natural products. Proceedings of the 50th N.Z. Plant Protection Conference, Hastings, New Zealand, p.159.
 6. Arras G, Agabbio M, Piga A, D'hallewin G, Gerasopoulos D, Olympios C, Passam H (1993) Fungicide effect of volatile compounds of *Thymus capitatus* essential oil. In International Symposium on Quality of Fruit and Vegetables: Influence of Pre-and Post-Harvest Factors and Technology 379:593-600.
 7. Asghari Marjanlo A, Mostofi Y, Shoeibi S, Fattahi M (2009) Effect of cumin essential oil on postharvest decay and some quality factors of strawberry. Journal of Medicinal Plants 8:25-43.
 8. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M (2008). Biological effects of essential oils- a review. Food and Chemical Toxicology 46:446-475.
 9. Barnett HL, Hunter BB (1998) Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth edition, APS Press, Minnesota, USA, 218p.
 10. Behdani M, Pooyan M, Abbasi S (2012) Evaluation of antifungal activity of some medicinal plants essential oils against *Botrytis cinerea*, causal agent of postharvest apple rot, *in vitro*. International Journal of Agriculture and Crop Sciences 4:1012-1016.
 11. Behnamian M, Najafi Z, Davari M, DEzhsetan S (2017) Antifungal activity of medicinal plant essential oils against *Mycogone perniciosa*, causal agent of wet bubble and their effects on button mushroom. Biological Control of Pests and Plant Diseases 6:111-119. (In Persian with English Abstract).
 12. Bellerbeck VG, De Roques CG, Bessiere JM, Fonvieille JL, Dargent R (2001) Effect of *Cymbopogon nardus* (L) W. Watson essential oil on the growth and morphogenesis of *Aspergillus niger*. Canadian Journal of Microbiology 47:9-17.
 13. Bergmann BA, Dole JM (2018) Influence of essential oils on post-infection Botrytis damage in cut roses. Journal of Environmental Horticulture 36:45-57.
 14. Bishop CD, Reagan J (1998) Control of the storage pathogen *Botrytis cinerea* on dutch white cabbage (*Brassica oleracea* var *capitata*) by the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. Journal of Essential Oil Research 10:57-60.
 15. Burt S (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. International Journal of Food Microbiology 94:223-253.
 16. Daferera DJ, Ziogas BN, Polissiou MG (2003) The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Crop Protection 22:39-44.
 17. De Almeida LFR, Frei F, Mancini E, Martino LD, Feo VD (2010) Phytotoxic activities of Mediterranean essential oils. Molecules 15:4309-4323.
 18. Dogu DM, Zobar D (2014) Effects of some plant essential oils against *Botrytis cinerea* and *Tetranychus urticae* on grapevine. Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences (Special Issue) 1:1268-1273.
 19. Dorman HJD, Deans SG (2000) Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology 88:308-316.
 20. Elad Y, Vivier M, Fillinger S (2016) Botrytis, the good, the bad and the ugly. Pp.1-15. In: S Fillinger, Y Elad (eds.). Botrytis-the fungus, the pathogen and its management in agricultural systems. Springer International Publishing Switzerland.

21. Hasani A, Jalili Marandi R, Ghosta Y (2009) Use of essential oils in control of grey mold (*Botrytis cinerea*) infection in of pear fruits. Iranian Journal of Horticultural Science 40:9-18. (In Persian with English Abstract).
22. Hennebert GL (1973) Botrytis and Botrytis-like genera. Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi 7:183-204.
23. Hidalgo PJ, Uberta JL, Santos JA, LaFont F, Castelanos C, Palomino A, Roman M (2002) Essential oils in *Culamintha sylvatica*. *Broma*. ssp. *ascendens* (Jorden) P.W. Ball wild and cultivated productions and antifungal activity. Journal of Essential Oil Research 14:68-71.
24. Holmes GJ, Eckert JW (1999) Sensitivity of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* to postharvest citrus fungicides in California. Phytopathology 89:716-721.
25. Hou H, Zhang X, Zhao T, Zhou L (2020) Effects of Origanum vulgare essential oil and its two main components, carvacrol and thymol, on the plant pathogen Botrytis cinerea. PeerJ 8:e9626.
26. Iacobellis NS, Cantore PL, Capasso F, Senatore F (2005) Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53:57-61.
27. Isman MB (2000) Plant essential oils for pest and disease management. Journal of Crop Protection 19:603-608.
28. Liu S, Shao X, Wei Y, Li Y, Xu F, Wang H (2016) *Solidago canadensis* L. essential oil vapor effectively inhibits Botrytis cinerea growth and preserves postharvest quality of strawberry as a food model system. Frontiers in Microbiology 7:1179.
29. Marotti M, Dellacecca V, Piccaglia R, Giovanelli E (1993) Agronomic and chemical evaluation of three "varieties" of *Foeniculum vulgare* Mill. In WOCMAP I-Medicinal and Aromatic Plants Conference: part 3 of 4331. 63-70.
30. Masih EI, Paul B (2002) Secretion of β -1, 3-glucanases by the yeast *Pichia membranifaciens* and its possible role in the biocontrol of *Botrytis cinerea* causing grey mold disease of the grapevine. Current Microbiology 44:391-395.
31. Mbili NC, Opara UL, Lennox CL, Vries FA (2017) Citrus and lemongrass essential oils inhibit Botrytis cinerea on 'Golden Delicious', 'Pink Lady' and 'Granny Smith' apples. Journal of Plant Diseases and Protection 124:499-511.
32. Mihaliak CA, Gershenzo J, Croteau R (1991) Lack of rapid monoterpene turnover in rooted plants, implications for theories of plant chemical defense. Oecologia 87:373-376.
33. Mirzaei S, Goltapeh EM, Shams-Bakhsh M (2007) Taxonomical studies on the genus Botrytis in Iran. Journal of Agricultural Technology 3:65-76.
34. Mohammadi S, Aminifard MH (2011) *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of three essential oils against grey mould disease in cucumber (*Cucumis sativus*). Asian Journal of Plant Sciences 10:287-293.
35. Mohammadifar M, Tavakol Norabadi M, Hasanzadeh M, Dashtipoor S, Etebarian HR, Sahebani N (2012) Study of antifungal activities of seven essential oils from some Iranian medicinal plants against various postharvest phytopathogenic fungi. Archives of Phytopathology and Plant Protection 45:2046-2056.
36. Mziouid A, Senhaji B, Heimeur N, Chebli H, Bounimi S, Mayad E, Chebli B (2018) Evaluation of the antifungal activity of five aromatic plants essential oils against Botrytis cinerea and their efficiency for keeping quality of fresh raspberries and strawberries. Applied Journal of Environmental Engineering Science 4:467-472.

37. Nguefak J, Leth V, Zollo A, Mathur SB (2004) Evaluation of five essential oils from aromatic plant of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. *International Journal of Food Microbiology* 94:329-334.
38. Palfi M, Konjevoda P, Vrandečić K, Čosić J (2019) Antifungal activity of essential oils on mycelial growth of *Fusarium oxysporum* and *Botrytis cinerea*. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 31:544-554.
39. Pandey R, Kalra A, Tandon S, Mehrotra N, Singh HN, Kumar S (2000) Essential oils as potent sources of nematicidal compounds. *Journal of Phytopathology* 148:501-502.
40. Plaza P, Torres R, Usall J, Lamarca N, Vinas I (2004) Evaluation of the potential of commercial post harvest application of essential oils to control citrus decay. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 79:935-940.
41. Plotto A, Roberts DD, Roberts RG (2003) Valuation of plant essential oils as natural postharvest disease control of tomato (*Lycopersicon esculentum*). In XXVI International Horticultural Congress: Issues and Advances in Postharvest Horticulture 628:737-745.
42. Rahemi M (2010) Post-harvest Physiology: Preface on Physiology and Transfer of Fruit, Vegetable and Ornamental Plants. Shiraz University Press, Iran, 437p. (In Persian).
43. Reang SP, Mishra JP, Prasad R (2020) In vitro antifungal activities of five plant essential oils against *Botrytis cinerea* causing gray mold of orange. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 9:1046-1048.
44. Reddy MVB, Angres P, Gosselin A, Arul J (1997) Characterization and use of essential oil from *Thymus vulgaris* against *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer* in strawberry fruit. *Phytochemistry* 97:1515-1520.
45. Safaei-Farahani B, Mostowfizade-Ghalamfarsa R (2019) Fungal plant disease management by natural essential oils. *Plant Pathology Science* 8:24-37. (In Persian with English Abstract).
46. Salehi P, Sonboli A, Eftekhari F, Nejad-Ebrahimi S, Yousefzadi M (2005) Essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of the oil and various extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* (BOISS.) RECH. F. from Iran. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 28:1892-1896.
47. Salek Mearaji H, Salek Naghdi R, Tafreshi K (2015) Suppressiveness of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and fennel (*Foeniculum vulgare*) essential oils on *Fusarium oxysporum*. *Research in Plant Pathology* 3:57-68. (In Persian with English Abstract).
48. Singh J, Tripathi NN (1999) Inhibition of storage fungi of black gram (*Vigna mungo* L.) by some essential oils. *Flavour and Fragrance Journal* 14:42-44.
49. Siripornvisal S, Rungprom W, Sawatdikarn S (2009) Antifungal activity of essential oils derived from some medicinal plants against grey mold (*Botrytis cinerea*). *Asian Journal of Food and Agro-Industry* S229-S233.
50. Soliman KM, Badeaa RI (2002) Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food and Chemical Toxicology* 40:1669-1675.
51. Spadaro D, Gullino ML (2004) State of the art and future prospects of the biological control of postharvest fruit diseases. *International Journal of Food Microbiology* 91:185-194.
52. Steel RG (1997) Principles and procedures of statistics a biometrical approach. 3rd ed. McGraw Hill Book Co. Inc., New York, USA, 666p.

53. Lee SO, Choi GJ, Jang KS, Lim HK, Cho KY, Kim JC (2007) Antifungal activity of five plant essential oils as fumigant against postharvest and soil borne plant pathogenic fungi. *The Plant Pathology Journal* 23:97-102.
54. Suzuki K, Kato T, Takahashi J, Kamoshita K (1984) Mode of action of methyl N-(3,5-dichlorophenyl)-carbamate in the benzimidazole-resistant isolate of *Botrytis cinerea*. *Journal of Pesticide Science* 9:497-501.
55. Tian SP (2006) Microbial control of postharvest diseases of fruits and vegetables: current concepts and future outlook. *Microbial Biotechnology in Horticulture* 1:163-202.
56. Tripathi P, Dubey NK, Shukla EK (2008) Use of some essential oils as post-harvest botanical fungicides in the management of grey mold of grapes caused by *Botrytis cinerea*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24:39-46.
57. Vitoratos A, Bilalis D, Karkanis A, Efthimiadou A (2013) Antifungal activity of plant essential oils against *Botrytis cinerea*, *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 41:86-92.
58. Wang C, Zhang J, Chen H, Fan Y, Shi Z (2010) Antifungal activity of eugenol against *Botrytis cinerea*. *Tropical Plant Pathology* 5:137-143.
59. Williamson B, Tudzynski B, Tudzynski P, Van Kan JAL (2007) *Botrytis cinerea*: the cause of gray mold disease. *Molecular Plant Pathology* 8:561-580.
60. Wilson CL, Solar JM, El Ghaouth A, Wisniewski ME (1997) Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Disease* 81:204-210.
61. Zhang H, Wang L, Dong Y, Jiang S, Cao J, Meng R (2007) Postharvest biological control of gray mold decay of strawberry with *Rhodotorula glutinis*. *Biological Control* 40:287-292.