بیماری‌های گیاهی / جلد ۵۸ / شماره ۲ / سال ۱۴۰۱: ۱۳۹-۱۳۴ DOI: 10.22034/ijpp.2023.1975726.396

CC BY

گزارش علمی کوتاه

شناسایی و بیماریزایی گونه *Alternaria infectoria* جدا شده از درختان کهور ایرانی دارای نشانه شانکر در ایران

شقایق قرهی[۱]، عادل پردل[۲*]، امیررضا امیرمیجانی[۳]، هادی درودی[۴]، محمد ابراهیم فرآشیانی[۵]

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۹/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۲۰)

در طی بهار و تابستان سال ۱۴۰۰، نمونه‌هایی از سرشاخه درختان کهور ایرانی (*Prosopis cineraria* L.) دارای علائم شانکر از جنگل‌ها و مراتع منطقه صحارا-سندی در استان سیستان بلوچستان جمع‌آوری گردید. به منظور جداسازی قارچ‌های همراه با علائم شانکر درختان کهور ایرانی، نمونه‌های جمع‌آوری شده با علائم شانکر و بافت‌مردگی در دمای اتاق و روی محیط کشت آب-آگار ۲٪ کشت داده شد. پس از گذشت سه روز، رشد عوامل قارچی در حاشیه بافت کشت شده مشاهده گردید که چند جدایه قارچی متعلق به جنس *Alternaria* نیز جداسازی و به روش نوک هیف خالص‌سازی گردید. به منظور شناسایی جدایه‌ها با استفاده از ویژگی‌های ریخت‌شناسی، کشت خالص در دمای ۲۵-۲۳ درجه سلسیوس روی محیط کشت سیب‌زمینی-هویج-آگار (PCA) تحت شرایط ۸ ساعت نور سفید فلورسنت و ۱۶ ساعت تاریکی برای مدت زمان ۵ تا ۷ روز نگهداری شد (Simmons, 2007). براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی از قبیل رنگ پرگنه، نحوه هاگ‌زایی، اندازه کنیدی‌بر اولیه و ثانویه، ویژگی‌های کنیدیوم از قبیل رنگ، شکل و الگوی تزئینات سطح آن، جدایه‌ها در بخش *Alternaria* section *Infectoria* قرار گرفت. پرگنه این قارچ روی محیط کشت PCA به رنگ قهوه ای مایل به سیاه و مسیلیوم ها روی و درون محیط کشت رشد می‌کنند و میسیلیوم هوایی زیادی تشکیل گردید (شکل ۱-A) کنیدیوفور های اولیه کوتاه و اندازه آن ها ۳-۲ × ۳۵-۷۳ میکرومتر می‌باشد (شکل ۱ B). کنیدیوم ها به صورت زنجیره‌های منشعب خوشه‌ای در انتهای کنیدیوفورها تشکیل و انشعابات زنجیره از طریق تولید کنیدیوفور ثانویه صورت می‌گیرد (شکل ۱ C-F).کنیدیوم‌ها قهوه‌ای رنگ و به چماقی شکل، در

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: a_pordel@areeo.ac.ir

۱ دانشجوی دوره کارشناسی ارشد، گروه گیاهپزشکی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

۲ استادیار پژوهش، بخش گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی بلوچستان، بمپور، ایران.

۳ استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت، جیرفت، ایران.

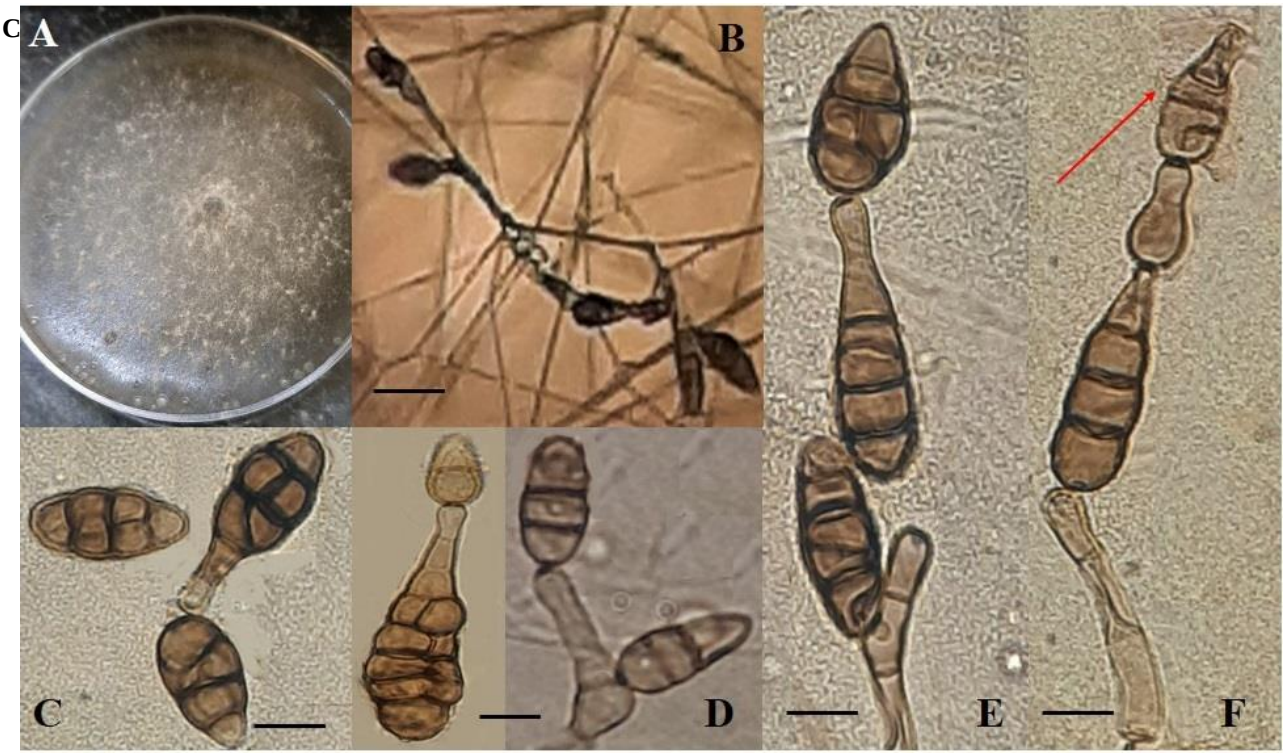
۴ استادیار پژوهش، بخش جنگل و مرتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی بلوچستان، بمپور، ایران.

۵ استادیار پژوهش، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

برخی موارد که بالغ تر هستند به شکل چماقی شکل کشیده به ابعاد ۱۵–۸ ×۴۵–۱۸ میکرومتر است. تعداد دیواره‌های عرضی از ۲ تا ۶ متغیر و ۱ تا ۳ دیواره طولی تیره می‌باشد (شکل ۱ C-F). به منظور شناسایی تکمیلی، از ناحیه ژنومی **ITS-rDNA** و گلیسرید دی هیدروژناز فسفاتاز (***gpd***) و ژن کد کننده پروتئین پمپ پروتونی غشا پلاسمایی (***ATPase***) برای تعیین ترادف نوکلئوتیدی یک جدایه (**S3BK**) استفاده گردید (**White *et al.*, 1990; Berbee *et al.*, 1999**). درخت فیلوژنی برای بخش **Infectoriae** براساس این سه ناحیه ژنی ترسیم گردید (**Poursafar *et al.*, 2017; Marin-Felix *et al.*, 2019**) و جدایه **S3BK** با گونه ***Alternaria infectoria* CBS 210.86** و ***A. frumenti* CBS 119401** در یک کلاد قرار گرفت. اندازه کنیدیوم اولیه و ثانویه گونه ***A. frumenti* CBS 119401** از جدایه **S3BK** بزرگتر و عریض‌تر است (شکل ۲).

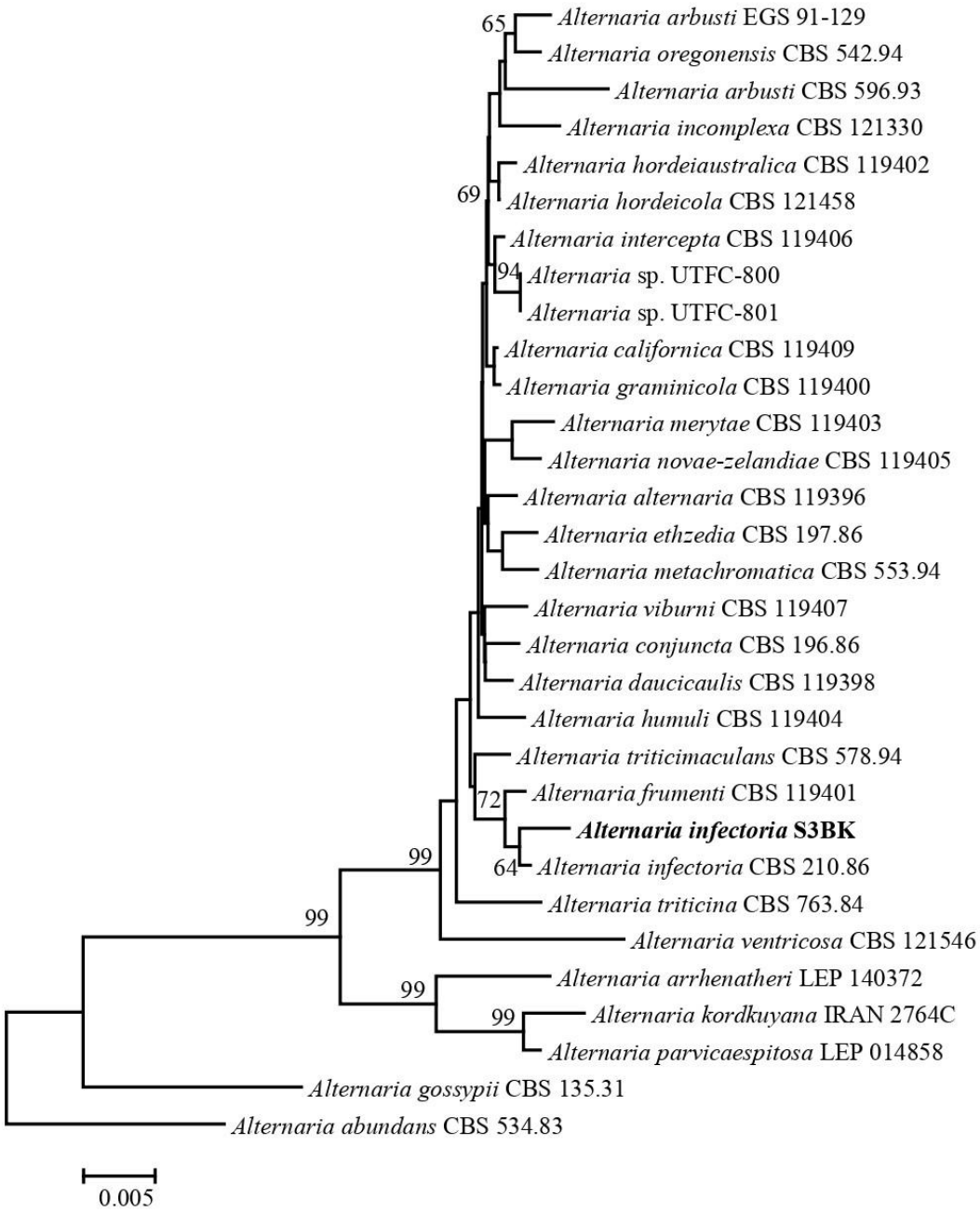
به منظور انجام آزمون بیماری‌زایی، ساقه نهال‌های کهور ایرانی توسط جدایه **S3BK** با ایجاد خراش روی برخی از نهال‌ها و قرار دادن قرص میسلیومی روی برخی دیگر از نهال‌ها مایه‌زنی گردید. نهال‌های مایه زنی شده در شرایط گلخانه با رطوبت نسبی ۸۰ درصد و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شد. پس از گذشت یک هفته، علائمی بیماری روی نهال‌های کهور ایرانی ظاهر (شکل ۳ B-C) که ابتدا برگ‌ها زرد و درنهایت برگ‌های زرد شده خزان کرد (شکل ۳ B-C). هیچ نوع علائمی در گیاه شاهد مشاهده نشد (شکل ۳ A). جدایه مجددا از گیاه مایه‌زنی‌شده جداسازی و به لحاظ ریخت‌شناسی مورد بررسی قرار گرفت. این اولین گزارش از گونه ***Alternaria infectoria*** روی درختان کهور ایرانی دارای علائم شانکر می‌باشد.

واژگان کلیدی: تنوع زیستی، **Dothideomycetes**، قارچ‌های میتوسپوریک، بیمارگر، صحارا–سندی، جنوب شرق ایران



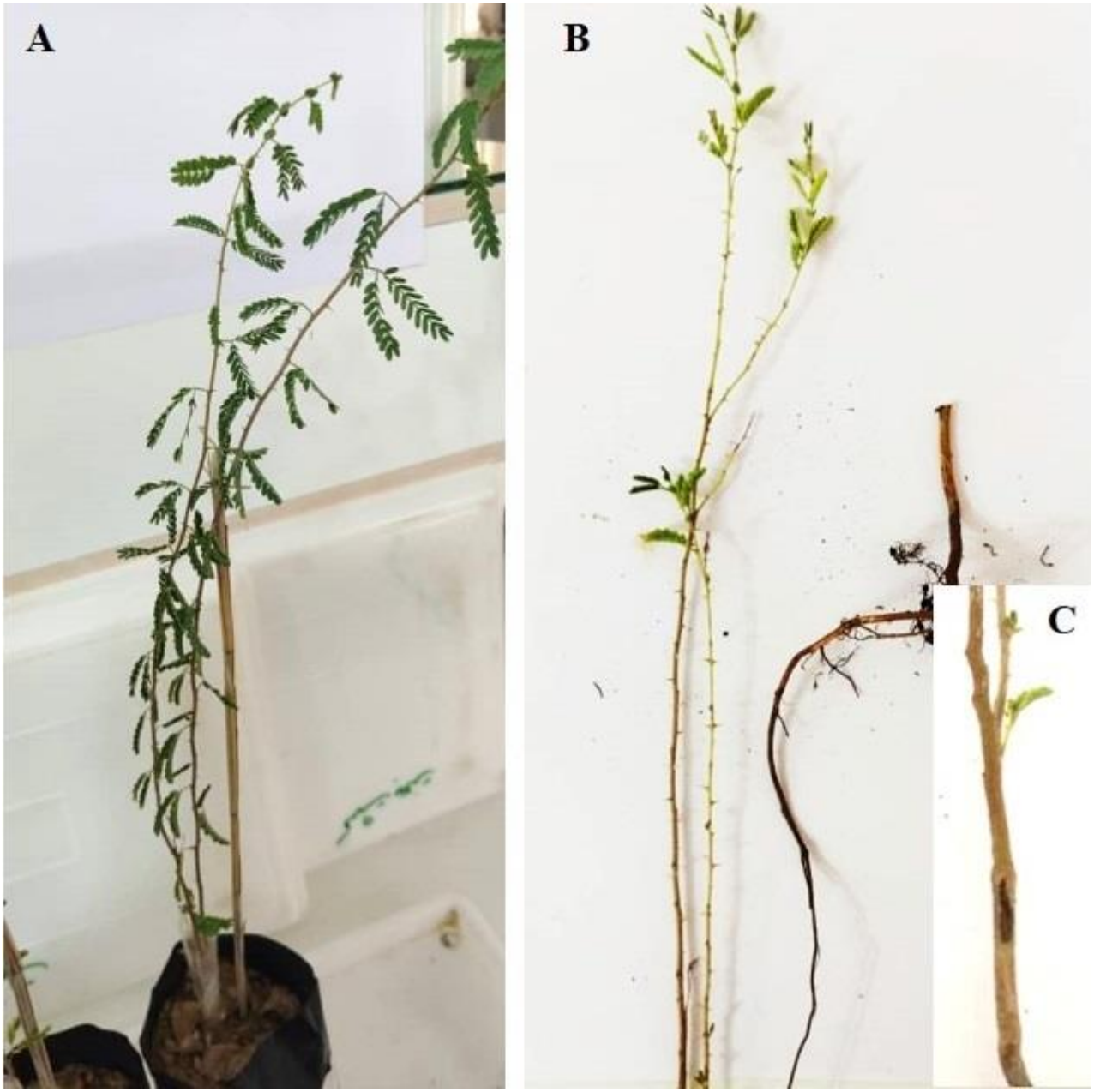
شکل ۱. A) پرگنه روی محیط کشت PCA، B) کنیدیوفور، C-F) کنیدیوم اولیه و ثانویه *Alternaria infectoria*، Scale bar= 10µm

Figure 1 A) Colony on PCA, B) Conidiophores, C-F) Primary and secondary conidia of *Alternaria infectoria*, Scale bar= 10µm



شکل ۲. تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی ۳۱ جدایه متعلق به جنس *Alternaria* با استفاده از ترادف نوکلئوتیدی نواحی ژنی ITS-rDNA، گلیسرید دی هیدروژناز فسفاتاز (*gpd*) و ژن کد کننده پروتئین پمپ پروتونی غشا پلاسمایی (*ATPase*) جدایه S3BK در درخت فیلوژنی مشخص شده است.

Figure 2 Phylogenetic analysis of internal transcribed spacer (ITS) region, glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (*gpd*), and plasma membrane ATPase (*ATPase*) sequences from 31 *Alternaria* isolates. S3BK isolates is presented in highlight.



شکل ۳. A) کنترل B-C) گیاه مایه زنی شده با علائم زردی در برگ

Figure 3 A) Control, B-C) Affected plants showing yellow symptoms on leaves.

Iran. J. Plant Path., Vol. 58, No .2, 2022: 134-139

CC BY

DOI: 10.22034/ijpp.2023.1975726.396

Short Scientific Report

Identification and pathogenicity of Alternaria infectoria isolated from Jand trees (*Prosopis cineraria*) having canker symptoms in Iran

Sh. Gharahi[1], A. Pordel[2*], A. R. Amirmijani[3], H. Darroudi[4], and M. E. Farashiani[5]

(Received: 18.2.2023; Accepted: 10.5.2023)

In the spring and summer of 2021, branches of Jand trees (*Prosopis cineraria* L.) with canker symptoms were collected from the ranges and forests of the Sahara-Sandy region, Sistan, and Baluchestan province, Iran. The branches with canker symptoms and necrosis were incubated at room temperature in a Water-Agar 2%. After three days of incubation, different fungi were grown. Some fungal isolates belonging to the genus *Alternaria* were isolated from surface-sterilized samples. To identify isolates by morphological criteria, purified cultures were incubated at 23-25°C on Potato Carrot Agar (PCA) medium under an 8/16 h light/ dark cycle photoperiod for 5-7 days (Simmons, 2007). Based on morphological characteristics such as colony color, sporulation pattern, sizes of primary and secondary conidiophores, conidia, and surface ornamentation of conidia, isolates were grouped into *Alternaria* sections *infectoria*. On PCA after 7 days, colonies dark brown with gray aerial mycelia (Figure 1 A). Primary conidiophores arising singly from hyphae, small, 35-73×2-3 µm (Figure 1 B). Conidia were obclavate in long or short chains predominantly with longitudinal septa (Figure 2 C-F). Conidia are mainly produced in simple chains of 3–9 conidia. They may produce secondary conidiophores from the apical cell of the conidium. Young conidia are medium brown, ellipsoidal, and obclavate, usually with darkened and constricted median transeptum, 2–6 transverse and 1-3 longitudinal (Figure 2 C-F). The isolate was further identified by sequencing the internal transcribed spacer (ITS) region, glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (*gpd*), and plasma membrane ATPase (*ATPase*) (White *et al.* 1990; Berbee *et al.*, 1999). In phylogenetic tree is constructed for the *Infectoriae* section based on three gene regions (Poursafar *et al.* 2017; Marin-Felix *et al.*, 2019), the S3BK isolate lied with *Alternaria infectoria* CBS 210.86, and *A. frumenti* CBS 119401 in the same clade.
To confirm Koch's postulate, Jand stems (three plants) were inoculated with the *Alternaria infectoria S3BK*. The stems showed symptoms (Figure 3 B-C) that the leaves become yellow and finally dry and fall (Figure 3 B-C). No symptoms were observed in the control plants (Figure 3 A). The fungus was reisolated from lesions of inoculated plants and morphologically identified. This is the first report of *Alternaria infectoria* on Jand trees having canker symptoms in Iran.

Key words: Biodiversity, Dothideomycetes, Mitosporic fungi, Pathogen, Sahara-Sandy, Southern Iran

1 MSc Student, Department of Plant Protection, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj.
*Corresponding Author, Email: a_pordel@areeo.ac.ir
2 Assistant Professor, Plant Protection Research Department, Baluchestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Iranshahr, Iran.
3 Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran.
4 Assistant Professor, Research Division of Natural Resources, Baluchestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Iranshahr, Iran.
5 Assistant Professor, Research Institute of Forests and Rangelands (RIFR), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

Refrences

منابع

Berbee, M.; Pirseyedi M.; Hubbard S. 1999. Cochliobolus phylogenetics and the origin of known, highly virulent pathogens, inferred from ITS and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene sequences. Mycologia 91: 964–977.

Poursafar A., Ghosta Y., Orina A. S., et al. 2017. Taxonomic study on *Alternaria* sections Infectoriae and Pseudoalternaria associated with black (sooty) head mold of wheat and barley in Iran. Mycological Progress 17: 343–356. https://doi.org/10.1007/s11557-017-1358-1.

Marin-Felix Y. 2019. Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 3. Studies in Mycology 94: 1–124.

Simmons E. G. 2007. *Alternaria*: an Identification Manual. CBS Fungal Biodiversity Center, Utrecht. Netherland

White T. J., Bruns T. D., Lee S. and Taylor S. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics pp: 315–322 In: M.A. Innis D.H., Gelfand J.J. Sninsky, and T.J. White (Eds). PCR - Protocols and Applications - A Laboratory Manual, Academic Press, New York, USA. . https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1