



بررسی تنوع ریخت شناختی و فیلوژنتیکی *Phytophthora erythroseptica*

بنفشه صفایی فراهانی^۱، رضا مستوفی زاده قلمفرسا^۲

^۱ استادیار، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج

کشاورزی، شیراز، ایران، b.safae@areeo.ac.ir

^۲ استاد، بخش گیاهپزشکی، دانشگاه شیراز، دانشگاه شیراز، rmostofi@shirazu.ac.ir

چکیده

در این پژوهش خصوصیات فیلوژنتیکی و ریخت‌شناختی ۱۸ جدایه *Phytophthora erythroseptica*، عامل پوسیدگی صورتی سیب‌زمینی، متعلق به قاره‌های آسیا، اروپا، استرالیا و آمریکا مورد بررسی قرار گرفت. پس از رسم درخت‌های فیلوژنتیکی برای نواحی آی‌تی‌اس و زیر واحد یک سیتوکروم سی اکسیداز، تمام جدایه‌های *P. erythroseptica* همراه با جدایه‌ی تیپ این گونه در یک گروه تک نیای مجزا قرار گرفته، فاقد هر گونه تنوع بودند. این یک‌نواختی می‌تواند ناشی از طبیعت هم‌تال *P. erythroseptica* یا انتشار یک همسانه‌ی منفرد این گونه توسط غده‌های آلوده‌ی سیب‌زمینی در نقاط مختلف دنیا باشد. بررسی خصوصیات ریخت‌شناختی جدایه‌های مورد بررسی نشان داد این خصوصیات در جدایه‌های متعلق به مناطق جغرافیایی مختلف به یک‌دیگر شبیه بوده، اسپورانژیوم‌ها در تمام جدایه‌ها بدون پستانک، تخم‌مرغی شکل، بیضی شکل تا گلابی شکل با افزولش داخلی و خارجی هستند. همچنین تمامی جدایه‌ها هم‌تال بوده، آنتریدیوم‌ها منفرد و پیراماده و آگونیوم‌ها کروی و اسپورها گرد و ناپرساز تولید کردند.

واژه‌های کلیدی

پوسیدگی صورتی سیب‌زمینی، آی‌تی‌اس، بتاتوبولین و زیر واحد یک سیتوکروم سی اکسیداز

مقدمه

جنس فیتوفتورا از مهم‌ترین جنس‌های بیماری‌زای گیاهی است که سبب خسارت اقتصادی قابل توجهی در سراسر دنیا می‌شود. تا کنون بیش از ۱۲۰ گونه در این جنس شناسایی شده است که اغلب آن‌ها بیمارگر گیاهی هستند [۹]. یکی از مهم‌ترین گونه‌های فیتوفتورا گونه‌ی *Phytophthora erythroseptica* Pethybridge است که در سال ۱۹۱۳ به عنوان عامل پوسیدگی صورتی غده‌های سیب‌زمینی شناسایی و توصیف شد. مطالعات ابتدایی نشان داد که این گونه خصوصیات ریخت‌شناختی مشابهی با *Phytophthora cryptogea* Pethybridge & Lafferty و *Phytophthora pseudocryptogea* Safaifarhani, Mostowfizadeh, Hardy & T. I. Burgess دارد و تنها صفت متمایز کننده در این گونه‌ها رفتار آمیزشی هم‌تالی در *P. erythroseptica* است [۵، ۱۵]؛ اما رفتار آمیزشی در گونه‌های فیتوفتورا همیشه ثابت نیست و ممکن

است تحت تأثیر شرایط محیطی مانند وجود ترکیب‌های گیاهی یا قارچی خاص، نگهداری طولانی مدت در محیط‌های کشت، آسیب‌های فیزیکی و مواد موجود در قارچ‌کش‌ها تغییر کند [۶]. شباهت *P. erythroseptica* به سایر گونه‌های فیتوفتورا، ممکن است سبب شناسایی نادرست این گونه و گزارش خصوصیات ریخت‌شناختی غیرمعتبر شود. در سال‌های اخیر استفاده از روش‌های مولکولی ابزار قدرتمندی برای تمایز گذاشتن بین گونه‌های فیتوفتورایی که خصوصیات ریخت‌شناختی مشابه دارند فراهم کرده است [۲، ۸، ۹]. هدف از این پژوهش استفاده از روش‌های مولکولی برای شناسایی جدایه‌های مورد بررسی به عنوان *P. erythroseptica* و استفاده از نواحی هسته‌ای و میتوکندریایی برای تعیین میزان تنوع در جدایه‌های *P. erythroseptica* از مناطق مختلف جغرافیایی بود. همچنین در این مطالعه، خصوصیات ریخت‌شناختی جدایه‌های متعلق به نواحی مختلف جهان مورد بررسی قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. بررسی خصوصیات فیلوژنتیکی

۲-۱-۱. استخراج دی‌ان‌ای

در این پژوهش، ۱۸ جدایه متعلق به مجموعه‌ی مرکز مطالعات و مدیریت فیتوفتورا در دانشگاه مرداک استرالیا برای انجام آزمون‌های مختلف انتخاب شد. جدایه‌های از غده‌های سیب‌زمینی آلوده به پوسیدگی صورتی در کشورهای ایران، انگلستان، هلند، استرالیا، کانادا و ایالت‌های ماین، واشنگتن، آیداهو، مینسوتا، داکوتای شمالی، کالیفرنیا و کارولینای شمالی ایالات متحد آمریکا جداسازی شده بودند. به منظور استخراج دی‌ان‌ای ابتدا قطعات سرماخش شده‌ی هر جدایه به روش مستوفی‌زاده قلمفرسا و میرسلیمانی تهیه شد [۱۰]. سپس به پنج میلی‌گرم از میسلیموم سرما خشک شده‌ی هر جدایه مقدار ۵۰۰ میکرولیتر بافر سی‌تب (۰/۱۲۱ گرم تریس، ۰/۰۷۴ گرم ای‌دی‌تی‌ای، ۰/۸۱۸ گرم نمک طعام، ۰/۲ گرم سی‌تب، آب مقطر تا حجم ۱۰ میلی‌لیتر) حاوی ۰/۲ درصد پروتئیناز کی افزوده و میسلیموم با استفاده از هموژنایزر و چند دانه ماسه‌ی سترون به خوبی ساییده شد. عصاره‌ی به دست آمده به مدت یک ساعت در ۶۵ درجه‌ی سلسیوس قرار گرفت، سپس به مدت ۱۰ دقیقه در