

اولین گزارش از همراهی قارچ *Didymella microchlamydospora* با مرگ سرشاخه درختان زیتون از ایران

سیده اکرم احمدپور^۱، رضا فرخی نژاد^۲ و مهدی مهرابی کوشکی^۳

به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد^۱، استاد^۲ و استادیار^۳ بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، ایران
Sa_ahmadpoor@yahoo.com

زیتون با نام علمی *Olea europaea* از تیره زیتون‌سانان، گیاهی درختی و همیشه سبز است. قدمت کشت زیتون در ایران به ۴۳۰۰ سال پیش برمی‌گردد. این درخت بیشتر به عنوان گیاه روغنی در مازندران و گیلان و یا به عنوان گیاه زینتی در شهرهای مختلف ایران کاشته می‌شود. در این مطالعه در طول سال‌های ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴، طی بازدیدهای به عمل آمده از مناطق مختلف استان خوزستان، علائم زوال شدید در درختان زیتون هم‌چون زردی، پژمردگی، ریزش برگ، سرخشیدگی، شانکر، تغییر رنگ بافت چوب در مقطع عرضی و هم‌چنین ورقه شدن پوست شاخه‌ها و تنه مشاهده گردید. به منظور شناسایی بیمارگرهای همراه این علائم، شاخه‌های آلوده از شهرستان اهواز جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. جهت جداسازی بیمارگرهای احتمالی، قطعات چوب به اندازه ۵، ۰-۱ سانتی‌متر از حاشیه بین بافت آلوده و سالم تهیه و بعد از ضدعفونی سطحی با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۲٪ به مدت ۲ دقیقه و ۳ بار شستشو با آب مقطر سترون و پس از خشک شدن بوسیله کاغذ صافی سترون روی محیط غذایی سیب‌زمینی - دکستروز آگار (PDA) کشت شدند. سپس ظروف کشت به اتاقک کشت با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد منتقل و در شرایط تاریکی مطلق به مدت ۵ روز نگهداری شدند. پس از آن قارچ‌های حاصله به روش تک اسپور خالص‌سازی گردیدند. سپس آن نمونه‌های خالص‌سازی شده به مدت ۵ روز در شرایط فوق نگهداری شدند. جهت شناسایی مولکولی جدایه‌های به دست آمده، قطعه‌های ۵ میلی‌متری از حاشیه پرگنه‌های قارچ در محیط PDA جدا و در محیط کشت مایع سیب‌زمینی - دکستروز (PDB) مایه زنی گردید. هفت روز پس از نگهداری در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، تاریکی مطلق و همراه با تکان دادن، توده‌ی میسلیومی رشد یافته، صاف گردید. پس از آن DNA از میسلیوم‌های خشک - انجمادی و پودر شده استخراج شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز با جفت آغازگرهای ITS1 و NL4 جهت تکثیر نواحی ITS، D1 و D2 انجام شد. قطعات تکثیر خالص‌سازی و سپس توالی‌یابی گردیدند. توالی‌ها ویراستاری، مونتاژ و در بانک ژن ذخیره شدند (KX139018 و KX139027). جستجوی بلاست نشان داد که توالی مربوط به جدایه‌های مورد مطالعه با استرین‌های مرجع گونه *D. microchlamydospora* از جمله استرین *D. microchlamydospora* CBS 105.95 (NR-135969) تشابه ۹۹ درصدی دارد. آنالیز فیلوژنتیکی جدایه‌های حاصله در این مطالعه با توالی‌های مربوط به استرین‌های تیپ با استفاده از الگوریتم درست‌نمایی بیشینه، تعلق آن‌ها را به این گونه تأیید کرد. بر اساس اطلاعات موجود، این اولین گزارش از وقوع *D. microchlamydospora* روی زیتون در ایران و هم‌چنین دنیا می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: *Didymella microchlamydospora*، زیتون، ITS1، NL4.