



مقاله پژوهشی

گونه‌های قارچی و آُمیست همراه با بیماری زوال مرکبات در استان هرمزگان

آزاده گودرزی^{۱*} و سیاوش سماوی^۲

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۰۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۰۱)

چکیده

تحقیق حاضر با هدف جداسازی، شناسایی، تعیین فراوانی و بیماری‌زایی گونه‌های قارچی و آُمیست همراه با بیماری زوال مرکبات در شش منطقه مختلف از استان هرمزگان انجام گرفت. جداسازی قارچ‌ها و آُمیست‌ها از ریشه‌های بکرایی و لیمو مکزیکی و شاخه‌های نارنگی محلی روی محیط‌های کشت عمومی و نیمه‌انتخابی انجام شد. جدایه‌های به دست آمده، براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و توالی ناحیه ITS-rDNA و بخشی از ژن *TEF-1a* در سطح جنس یا گونه شناسایی شدند. درصد فراوانی هر یک از گونه‌ها براساس تعداد جدایه‌های به دست آمده از قطعات گیاهی کشت شده تعیین شد. قارچ‌های *Fusarium Macrophomina phaseolina* *Fusarium solani* *Phoma sp.* *Fusarium acutatum* *Rhizoctonia solani proliferatum* به ترتیب با فراوانی ۹۳/۵۱، ۱/۱، ۰/۲۶، ۰/۲۶، ۰/۱۷، ۰/۰۸، ۰/۰۴ و ۰/۰۴ درصد، و آُمیست‌های *Phytophthora* و *Pythium spp.* به ترتیب با فراوانی ۴/۹۶ و ۳/۱۲ درصد از ریشه‌های دارای پوسیدگی جداسازی شدند. گونه‌های قارچی جداسازی شده از شاخه‌های دارای سرخشیدگی شامل *Colletotrichum* و *Neofusicoccum mediterraneum* *Alternaria spp.* به ترتیب با فراوانی ۸۱/۷، ۱۰/۵۶ و ۰/۹۲ درصد بودند. بیماری‌زایی سه جدایه از هر یک از گونه‌ها روی نهال‌های یک‌ساله نارنگی محلی با پایه بکرایی مورد آزمون قرار گرفت. تمام جدایه‌ها، به جز جدایه‌های *Pythium sp.* و *Alternaria sp.* روی نهال‌های نارنگی بیماری‌زا بودند و نشانه‌هایی مشابه با نشانه‌های زوال مشاهده شده در باغ‌های مرکبات ایجاد نمودند. بیماری‌زایی جدایه‌های *Alternaria sp. 1* و *N. mediterraneum* روی شاخه‌های بریده نارنگی محلی و بیماری‌زایی *C. gloeosporioides* روی نهال‌های یک‌ساله نارنگی محلی مورد آزمون قرار گرفت که تمام جدایه‌های مورد بررسی بیماری‌زا بودند.

واژه‌های کلیدی: آُمیکوتا، پوسیدگی ریشه، خشکیدگی سرشاخه، قارچ، مرکبات

*بخشی از نتایج پروژه تحقیقاتی با شماره مصوب ۱۳-۹۷۰۵۷۲-۹۷۰۰۶۷-۱۶۱۰-۶۲-۱۳۴

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی a.goudarzi6061@gmail.com

۱. استادیار، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران

۲. مدیریت حفظ نباتات، سازمان جهاد کشاورزی هرمزگان، بندرعباس، ایران



DOI: 10.22034/ijpp.2023.2005737.417

Research Article

Fungal and oomycota species associated with citrus decline in Hormozgan province

Azadeh Goudarzi*¹ and Siavash Samavi²

(Received: 27.06.2023; Accepted: 22.11.2023)

Abstract

This study was conducted with the aim of isolation, identification, frequency determination and pathogenicity of fungal and oomycota species associated with citrus decline in six different locations of Hormozgan province. Isolation of fungi and oomycota was carried out from Bakraee and Mexican lime roots and local tangerine branches on general and semi-selective culture media. The isolates were identified at genus or species level based on morphological characteristics and sequence of ITS-rDNA and a part of *TEF-1a* gene. Frequency percentage of identified species was determined in surveyed locations based on numbers of cultivated plant pieces. *Fusarium solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium proliferatum*, *Alternaria* sp., *Rhizoctonia solani*, *Fusarium acutatum*, *Phoma* sp., *Fusarium* sp.1 and *Fusarium* sp.2 with the frequency of 93.51%, 1.1%, 0.26%, 0.26%, 0.17%, 0.08%, 0.04% and 0.04%, respectively, and *Pythium* spp. and *Phytophthora nicotianae* with the frequency of 4.96% and 3.12%, respectively, were isolated from roots with rot. Fungal species isolated from branches with dieback symptoms were *Alternaria* spp., *Neofusicoccum mediterraneum* and *Colletotrichum gloeosporioides* with the frequency of 81.7%, 10.56% and 0.92%, respectively. Pathogenicity of three isolates from each species was tested on one-year-old seedlings of local tangerine on Bakraee. All the investigated isolates, except for *Alternaria* sp. and *Pythium* sp., were pathogenic on seedlings and caused symptoms similar to decline symptoms observed in citrus orchards. Pathogenicity of *Alternaria* sp.1 and *N. mediterraneum* isolates was tested on detached branches of local tangerine and pathogenicity of *C. gloeosporioides* was tested on one-year-old seedlings of local tangerine and all tested isolates were pathogenic.

Keywords: Citrus, Dieback, Fungus, Oomycota, Root rot

*. Part of the results of the research project with the approved code 134-62-1610-067-97013-970572

** Corresponding author, e-mail: a.goudarzi6061@gmail.com.

1. Assistant Professor, Plant Protection Research Department, Hormozgan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Bandar Abbas, Iran

2. Plant Protection Department, Hormozgan Agriculture of Jihad Organization, Bandar Abbas, IRAN

مقدمه

پژمردگی و مرگ درختان میزبان می‌شود (Nemec et al., 1996; Rensburg et al. 1991). با این حال، اعتقاد بر این است که این قارچ، عامل اولیه مولد زوال در درختان مرکبات نیست و بسیاری از محققان، این گونه قارچی را به عنوان یک بیمارگر ثانویه در نظر می‌گیرند (Broadbent 2000). در اغلب موارد، بیش از یک بیمارگر خاک‌زاد در وقوع یا توسعه زوال در درختان مرکبات نقش دارند. آُمیست‌ها، به ویژه گونه‌های *Phytophthora* به عنوان بیمارگرهای خاک‌زاد مولد پوسیدگی ریشه و طوقه و عامل بیماری گموز مرکبات به خوبی شناخته شده‌اند. دو گونه *Phytophthora citrophthora* (R.E. Sm. & E.H. Sm.) و *P. nicotianae* Breda de Haan و Leonian از شایع‌ترین عوامل مولد پوسیدگی ریشه‌های تغذیه‌کننده در پایه‌های حساس مرکبات به شمار می‌روند. آلودگی ریشه و طوقه مرکبات با گونه‌های *Phytophthora* به از بین رفتن درختان تازه کاشته‌شده، کاهش عملکرد محصول و وقوع زوال تدریجی منجر می‌شود (Graham et al. 2011). در سال ۱۹۹۵، بر اهمیت گونه‌های *Phytophthora* به عنوان عوامل بیمارگر اولیه در ایجاد پوسیدگی ریشه‌های درختان مرکبات و وقوع نشانه‌های زوال تأکید شد (Fang & Tsao 1995). نتایج مطالعات انجام‌شده در ایتالیا نشان داد که شایع‌ترین بیمارگرهای ایجادکننده پوسیدگی‌های ریشه و طوقه مرکبات، گونه‌های *P. citrophthora* و *P. nicotianae* هستند (Ippolito et al. 1990; Ippolito et al. 2004). به علاوه، پوسیدگی فیتوفتورایی ریشه همراه با آلودگی ناشی از نماتد ریشه مرکبات (*Tylenchulus semipenetrans* Cobb) که به از بین رفتن ریشه‌های تغذیه‌کننده، کاهش عملکرد محصول و درنهایت، زوال درختان مرکبات منجر می‌شود، از آفریقا نیز گزارش شده است (Kotze 1982). علاوه بر بیمارگرهای ریشه، گونه‌های قارچی مولد شانکر و خشکیدگی سرشاخه نیز از عوامل محدودکننده تولید مرکبات در برخی از مناطق کشت این محصول در دنیا

ایران با دارا بودن ۲۶۷ هزار هکتار سطح زیر کشت و تولید بیش از ۴/۲ میلیون تن محصول مرکبات، در بین ۱۴۰ کشور تولیدکننده مرکبات در دنیا مقام هفتم را به خود اختصاص داده است. استان هرمزگان یکی از رتبه‌های برتر تولید مرکبات در ایران محسوب می‌شود و سهم مهمی را در تأمین این محصول در کشور به خود اختصاص داده است. سطح زیر کشت مرکبات در این استان بیش از ۳۲ هزار هکتار و میزان برداشت محصول حدود ۳۷۵ هزار تن است (Faghihi et al. 2009). زوال مرکبات، بیماری بسیار خسارت‌زا و مهمی است که طی چند دهه گذشته، باغ‌های مرکبات را در برخی از مناطق مرکبات خیز دنیا و از جمله ایران مورد تهدید قرار داده است. تقریباً تمام گونه‌ها و ارقام مرکبات نسبت به بیماری زوال حساس هستند، هرچند که ژنوتیپ‌های مختلف مرکبات از نظر میزان حساسیت به این بیماری متفاوتند (Azadvar et al. 2019a; Krueger & Bender 2015). زوال مرکبات نخستین بار در سال ۱۸۹۶ از فلوریدا و پس از آن، از تگزاس، آریزونا، برزیل، آفریقای جنوبی و ونزوئلا گزارش شد (Broadbent 2000). این بیماری عمدتاً از مناطقی با اقلیم‌های گرم و خشک گزارش شده است و در مناطق معتدل شیوع کمتری دارد. نتایج حاصل از مطالعات اولیه در زمینه سبب‌شناسی زوال مرکبات در دنیا، حضور برخی از قارچ‌های بیمارگر را همراه با ریشه درختان مرکبات دارای زوال آشکار نموده است. برای مثال، در مطالعات انجام‌شده در فلوریدا، کالیفرنیا، استرالیا و آفریقای جنوبی، گونه *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. به عنوان عامل ایجادکننده زوال از ریشه‌های درختان مرکبات جداسازی و گزارش شده است (Derrick & Timmer 1980; Graham et al. 2011; Nemec et al. 2000). *F. solani* یک گونه قارچی خاک‌زاد شایع در باغ‌های مرکبات به شمار می‌رود. این بیمارگر، ریشه‌های تغذیه‌کننده درختان مرکبات را آلوده می‌کند و از طریق تولید زهرابه، سبب

Phaeoacremonium Phillips, J.Z. Groenew. & Crous
parasiticum (Ajello, Georg & C.J.K. Wang) W.
P. italicum A. Carlucci, Gams, Crous & M.J. Wingf.
P. iranianum L. Mostert, & M.L. Raimondo
P. rubrigenum W. Gräfenhan, W. Gams & Crous
P. minimum (Tul. & C. Gams, Crous & M.J. Wingf.
P. croatiense (Tul.) Gramaje, L. Mostert & Crous
P. Essakhi, Mugnai, Surico & Crous
fraxinopensylvanicum (T.E. Hinds) Gramaje, L.
Cadophora Phaeoacremonium sp. Mostert & Crous
Juteo-olivacea (J.F.H. Beyma) T.C. Harr. & McNew
Biscogniauxia mediterranea (De Not.) Kuntze
C. boninense, *Colletotrichum gloeosporioides*
Peyronellaea Moriwaki, Toy. Sato & Tsukib.
pinodella (L.K. Jones) Aveskamp, Gruyter &
Stilbocrea walteri Voglmayr & Jaklitsch, Verkley
 چندین جدایه از *Phoma* Sacc. از *Pestalotiopsis* Steyaert
 و *Fusarium* از درختان لیموترش، پرتقال، ماندارین و
 لیموشیرین با علائم شانکر و خشکیدگی سرشاخه جداسازی
 شدند. نتایج آزمون‌های مایه‌زنی مصنوعی شاخه‌های بریده
 لیموترش با جدایه‌های قارچی نشان داد که *L. theobromae*
 تازنده‌ترین گونه است (Espargham et al. 2020).

صنعت مرکبات در استان هرمزگان نقش بسیار
 قابل توجهی در اقتصاد و معیشت کشاورزان ایفاء می‌کند. با
 این حال، وقوع بیماری زوال مرکبات طی چند دهه گذشته،
 بسیاری از باغ‌های مرکبات قدیمی و تازه استقرار یافته را در
 این استان تحت تأثیر قرار داده است. با توجه به گسترش
 تدریجی این بیماری در استان هرمزگان و تأثیر منفی آن بر
 عمر اقتصادی و عملکرد محصول مرکبات، شناسایی عوامل
 دخیل در وقوع بیماری زوال، نخستین گام در دستیابی به
 راه‌کارهای پیشگیری و مدیریت این بیماری به شمار می‌رود.
 از این رو، تحقیق حاضر با هدف جداسازی، شناسایی و

محسوب می‌شوند. برای مثال، خشکیدگی سرشاخه‌های
 درختان مرکبات ناشی از گونه قارچی *Ceratocystis*
fimbriata Ellis & Halst. در کلمبیا به عنوان تهدیدی برای
 تولید مرکبات در این منطقه گزارش شده است
 (Mourichon 1994). در کالیفرنیا، از درختان مرکبات دارای
 نشانه‌های شانکر و خشکیدگی سرشاخه، گونه‌های قارچی
 متعلق به خانواده Botryosphaeriaceae شامل،
Diplodia spp.، *Dothiorella* spp.، *Neofusicoccum* spp.
Neoscytalidium sp. و *Lasiodiplodia* spp. جداسازی شدند
 (Adesemoye 2014). در سال ۲۰۲۱، شیوع بیماری خشکیدگی
 سرشاخه‌های مرکبات ناشی از گونه‌های *Colletotrichum*
gloeosporioides (Penz.) C. karstii Y.L. Yang, Zuo Y. Liu, و Penz. & Sacc.
 K.D. Hyde & L. Cai از مناطق اصلی تولید پرتقال و
 نارنگی در آلبانی و ایتالیا گزارش شد (Riolo et al. 2021).
 در ایران، وقوع بیماری زوال مرکبات تا کنون از استان‌های
 جنوبی شامل هرمزگان، کرمان، فارس و خوزستان گزارش
 شده است. براساس نتایج مطالعات مختلف، آلودگی‌های
 انفرادی یا هم‌زمان بیمارگرهایی نظیر نماتد ریشه مرکبات،
 گونه‌های *Pythium* و *Phytophthora solani*،
Neofusicoccum mangiferae (Syd. & P. Syd.) B.
Candidatus Liberibacter asiaticus Sutton & Dyko
 به *Spiroplasma citri* و *Ca. Phytoplasma aurantifolia*
 عنوان عوامل ایجادکننده زوال مرکبات در این مناطق معرفی
 شده‌اند (Abivardi et al. 1970; Akbarpoor & Banhashemi 1998; Alizadeh et al. 2017; Azadvar et al. 2019a, 2019b; Banhashemi 1983; Faghihi et al. 2009; Fatemi 1972; Khanchezar et al. 2020; Mohkami et al. 2011; Passera et al. 2018). در تحقیقی در استان
 بوشهر، گونه‌های *Dothiorella viticola* A.J.L. Phillips &
Neoscytalidium Lasiodiplodia theobromae J. Luque
hyalinum (C.K. Campb. & J.L. Mulder) A.J.L.

رودان و میناب، به عنوان بخشی از کانون‌های اصلی بیماری زوال مرکبات در این استان انجام شد. در هر یک از مناطق ذکر شده، سه باغ مرکبات در نظر گرفته شد و در هر باغ، از هر یک از درختان دارای نشانه‌های زوال و بدون زوال، شامل نارنگی و پرتقال محلی با پایه بکرایی و لیمو مکزیکی، ۱۰ درخت انتخاب شدند (شکل ۱). نمونه‌های ریشه دارای نشانه‌های پوسیدگی و شاخه‌های دارای نشانه‌های سرخشیدگی از درختان منتخب جمع‌آوری شدند و به منظور جداسازی قارچ‌ها و آُمیست‌ها به آزمایشگاه انتقال یافتند.



شکل ۱. علائم بیماری زوال شامل زرد شدن و ریزش برگ‌ها، پژمردگی، ریزش برگ‌ها و خشکیدگی سرشاخه در درختان نارنگی محلی با پایه بکرایی در دهستان سیاهو واقع در استان هرمزگان.

Fig 1. Decline symptoms including leaf yellowing, defoliation, wilting and dieback in the trees of local tangerine on Bakraee in Siyahou village located in Hormozgan province.

داده شدند و پس از خشک شدن روی دستمال کاغذی سترون، به محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (PDA) منتقل شدند. برای جداسازی آُمیست‌ها، قطعات ریشه زیر جریان ملایم آب شستشو داده شدند و پس از خشک شدن روی دستمال کاغذی سترون، روی محیط کشت PARPH (محیط کشت پایه آرد ذرت-آگار (CMA)، حاوی پیماریسین ۱۰ میلی‌گرم، آمپی‌سیلین ۱۳۰ میلی‌گرم، ریفامپیسین ۱۰ میلی‌گرم، PCNB ۱۳۵ میلی‌گرم و هیمکسازول ۷۵ میلی‌گرم در لیتر) برای جداسازی

تعیین فراوانی گونه‌های قارچی و آُمیست همراه با زوال مرکبات در شش منطقه مختلف از استان هرمزگان و بررسی نقش این گونه‌ها در وقوع زوال انجام شد.

مواد و روش‌های بررسی

نمونه‌برداری از ریشه‌ها و شاخه‌های درختان مرکبات این تحقیق، طی سال‌های ۱۳۹۷ تا ۱۴۰۱ در شش منطقه مختلف از استان هرمزگان شامل زاکین و درگز واقع در دهستان سیاهو، سیرمند و رائیز از توابع شهرستان حاجی‌آباد،

جداسازی قارچ‌ها و آُمیست‌ها از ریشه‌ها و شاخه‌های درختان مرکبات

برای جداسازی قارچ‌ها، ریشه‌های دارای نشانه‌های پوسیدگی و شاخه‌های دارای نشانه‌های سرخشیدگی جمع‌آوری شده از درختان نارنگی و پرتقال محلی با پایه بکرایی و لیمو مکزیکی به قطعات کوچکی به ابعاد پنج میلی‌متر برش داده شدند و به مدت ۱۰ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به صورت سطحی ضدعفونی شدند. قطعات گیاهی سه مرتبه با آب مقطر سترون شستشو

(2013; Seifert *et al.* 2011; Woudenberg *et al.* 2013).

استخراج DNA ژنومی و شناسایی مولکولی جدایه‌ها

از هر یک از جدایه‌های قارچی و آمیست، یک یا دو جدایه که بیماری‌زایی آنها در آزمون‌های مایه‌زنی مصنوعی به اثبات رسیده بود، انتخاب شدند و به مدت ۱۰ روز روی محیط کشت PDA در دمای ۲۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند. حدود ۲۰۰ میلی‌گرم از توده میسلیمی با استفاده از یک قاشقک سترون از سطح محیط کشت جمع‌آوری شد و استخراج DNA ژنومی به روش CTAB انجام گردید (Moller *et al.* 1992). ناحیه ITS-rDNA با استفاده از آغازگرهای ITS1 (5'-TCCGTAGTTGGACCTGCGG-) و ITS4 (3'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') برای قارچ‌ها و آغازگرهای ITS5 (5'-) و ITS4 (3'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-) برای جدایه‌های *Phytophthora* تکثیر شد (White *et al.* 1990). همچنین، برای جدایه‌های *Fusarium* بخشی از توالی ژن فاکتور طولی-ساز ترجمه-۱ آلفا (*TEF-1α*) با استفاده از جفت آغازگر EF1 (5'-ATGGGTAAGGA(A/G)GACAAGAC-3') و EF2 (5'-GGA(G/A)GTACCAGT(G/C)ATCATGTT-) (O'Donnell *et al.* 1998). توالی‌های نوکلئوتیدی به دست آمده، با استفاده از نرم‌افزار BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>) با توالی‌های موجود در بانک ژن NCBI مقایسه شدند و توالی‌های با درصد مشابهت بالا از بانک ژن دریافت شدند. جدایه‌های قارچی و آمیست از طریق انطباق ویژگی‌های ریخت‌شناسی ماکروسکوپی و میکروسکوپی و داده‌های مربوط به توالی نوکلئوتیدی ناحیه ITS-rDNA و ژن *TEF-1α*، در سطح گونه شناسایی شدند.

Phytophthora و محیط کشت PARP (محیط کشت PARPH فاقد هیمکسازول) برای جداسازی *Pythium* قرار داده شد. تشتک‌های پتری به مدت ۱۰ روز در انکوباتور با دمای ۲۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پرگنه‌های قارچی رشدیافته از قطعات بافت‌های آلوده، به محیط کشت PDA و پرگنه‌های آمیست جداسازی شده به محیط کشت CMA انتقال داده شدند. خالص‌سازی هر یک از جدایه‌های قارچی و آمیست، به روش نوک ریشه روی محیط کشت آب-آگار (WA) انجام شد.

شناسایی جدایه‌ها بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی

شناسایی اولیه جدایه‌های قارچی و آمیست بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی ماکروسکوپی (رنگ، بافت و نرخ رشد پرگنه) و میکروسکوپی (کنیدیوفور، سلول‌های کنیدیوم‌زا و کنیدیوم) انجام شد. به منظور بررسی ویژگی‌های ریخت‌شناسی میکروسکوپی، از هر یک از جدایه‌ها اسلایدهای میکروسکوپی در محلول اسید لاکتیک ۵۰ درصد و گلیسرین تهیه شد و شناسایی جدایه‌ها بر اساس کلیدهای شناسایی و مقالات منتشرشده در سطح جنس انجام شد. به منظور تولید اسپورانژیوم جدایه‌های آمیست، ۱۵-۲۰ عدد دانه شاهدانه سترون روی میسلیم جوان هر یک از جدایه‌های رشدیافته روی محیط کشت CMA قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت، دانه‌های شاهدانه به تشتک‌های پتری حاوی ۲۰ میلی‌لیتر عصاره خاک یک درصد منتقل شدند و تشتک‌ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای آزمایشگاه در مجاورت لامپ فلورسنت قرار داده شدند. پس از این مدت، دانه‌های کلونیزه‌شده از نظر تشکیل اسپورانژیوم با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند (Ellis 1971, 1976; Leslie & Summerell 2006; Nelson *et al.* 1983; Simmons 2007; Sivanesan 1987; Sneh *et al.* 1991; Stamps *et al.* 1990; Erwin & Ribeiro 1996; Phillips *et al.*

رسم تبارنما

تبارنمای جدایه‌های قارچی و آُمیست، با استفاده از داده‌های توالی ناحیه ITS-rDNA برای تمام گونه‌های شناسایی شده و ژن *TEF-1α* برای گونه‌های *Fusarium* رسم شد. برای هر ناحیه، هم‌تراز نمودن توالی‌ها با برنامه هم‌ترازسازی چندگانۀ MAFFT (Standley 2013) انجام شد و سپس توالی‌ها در برنامه MEGA v. 6.0 به صورت چشمی تنظیم شدند. مجموعه توالی‌های هم‌تراز شده، با استفاده از نرم‌افزار MrModeltest v. 2.3 (Posada & Crandall 1998) واکاوی شدند و بهترین مدل‌های جانیشینی پایه با توجه به معیار Akaike (AIC) انتخاب شدند. واکاوی تبارشناختی برای ناحیه ITS-rDNA و ژن *TEF-1α* به صورت انفرادی با استفاده از نرم‌افزار MrBayes v. 3.2.1 (Ronquist & Huelsenbeck 2003) انجام شد. واکاوی زنجیره مارکوف مونت کارلو (MCMC) از دو اجرای مستقل و چهار زنجیره به موازات یکدیگر با استاندارد فرکانس‌های تقسیم بین درختان تولیدشده در هر اجرا به کمتر از ۰/۰۱ رسید، واکاوی متوقف شد. درختان در هر ۱۰۰ نسل ذخیره و ۲۵ درصد از درختان تولیدشده حذف شدند. درختان باقیمانده برای تعیین احتمالات پسین (PP) مورد استفاده قرار گرفتند.

تعیین فراوانی گونه‌های قارچی و آُمیست در مناطق

مورد بررسی

فراوانی هر یک از گونه‌های قارچی و آُمیست در مناطق مورد بررسی، براساس تعداد جدایه‌های رشدیافته اطراف قطعات گیاهی کشت شده روی محیط کشت‌های عمومی و نیمه انتخابی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$F = \frac{a}{b} \times 100$$

a: تعداد جدایه‌های رشدیافته اطراف قطعات گیاهی، b:

تعداد قطعات گیاهی کشت شده

آزمون‌های بیماری‌زایی

از هر یک از گونه‌های قارچی و آُمیست، شش جدایه خالص به طور تصادفی انتخاب شدند و بیماری‌زایی آنها در آزمون‌های مقدماتی روی نهال‌های نارنگی محلی با پایه بکرایی که به عنوان حساس‌ترین ژنوتیپ مرکبات نسبت به بیماری زوال در استان هرمزگان شناخته شده است، مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به شدت بیماری مربوط به هر جدایه و مدت زمان لازم برای ظهور نشانه‌های بیماری، سه جدایه از هر گونه انتخاب شدند. برای انجام آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های منتخب به دست‌آمده از ریشه، نهال‌های یک‌ساله نارنگی محلی با پایه بکرایی در پلاستیک‌های گلدانی سیاه‌رنگ حاوی هفت کیلوگرم خاک سترون کاشته شدند. گونه‌های جداسازی شده از ریشه، شامل شش گونه قارچی *F. proliferatum*، *F. solani*، *F. acutatum* Nirenberg & (Matsush.) Nirenberg، *Rhizoctonia solani* J.G. Kuhn، O'Donnell و *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. و *Alternaria* sp. و دو گونه آُمیست *P. nicotianae* و *Pythium* sp. برای انجام آزمون‌های بیماری‌زایی مورد استفاده قرار گرفتند. از بین گونه‌های قارچی جداسازی شده از شاخه، بیماری‌زایی *Alternaria* sp. 1 (دارای بیشترین تعداد جدایه در بین گونه‌های *Alternaria*)، *Neofusicoccum mediterraneum* Crous, M.J. Wingf.

و A.J.L. Phillips & *C. gloeosporioides* بررسی شد.

زادمایه جدایه‌های *Fusarium* spp. و *Alternaria* sp. شامل سوسپانسیون کیندیوم با غلظت 10^6 کیندیوم بر میلی‌لیتر آب مقطر سترون، از پرگنه‌های رشدیافته روی محیط کشت PDA تهیه شد (Kurt et al. 2020; Uwaremwe et al. 2020). با استفاده از یک میله شیشه‌ای سترون، چهار حفره به طول ۱۰ سانتی‌متر و به فاصله پنج سانتی‌متر از طوقه در چهار طرف هر نهال ایجاد شد و ۴۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون کیندیوم مربوط به هریک از جدایه‌ها به ازای هر کیلوگرم

ارزیابی شد. برای مایه‌زنی نهال‌ها، خاک اطراف نهال‌ها تا عمق ۱۰ سانتی‌متری برداشته شد و با خاک حاوی زادمایه عامل بیماری (حداقل ۱۰۰ ریزسختینه در هر گرم خاک) جایگزین شد. مایه‌زنی نهال‌های شاهد با خاک بدون قارچ انجام شد. زادمایه جدایه‌های *Pythium* و *Phytophthora* با استفاده از ورمیکولایت و عصاره شاهدانه تهیه شد (Banhashemi 2004). برای مایه‌زنی، خاک اطراف نهال‌ها تا عمق ۱۰-۸ سانتی‌متری کنار زده شد و ۱۰ گرم از زادمایه در اطراف طوقه هر نهال قرار داده شد. مایه‌زنی نهال‌های شاهد با استفاده از مخلوط ورمیکولایت سترون و عصاره شاهدانه انجام شد. تمام گلدان‌ها بلافاصله پس از مایه‌زنی و همچنین هر دو هفته یک‌بار غرقاب شدند. آبیاری گلدان‌ها به صورت روزانه انجام شد. تمام نهال‌ها به مدت ۱۸ ماه در گلخانه با درجه حرارت و رطوبت نسبی محیط قرار داده شدند و ظهور نشانه‌های بیماری به طور منظم مورد بررسی قرار گرفت. معیارهای مورد استفاده برای ارزیابی نشانه‌های ناشی از جدایه‌های خاک‌زاد شامل تشکیل جوانه‌های برگ جدید، زرد شدن و ریزش برگ‌ها، سرخشیدگی شاخه‌ها و مرگ نهال‌ها بود. پس از اتمام دوره آزمایش، نهال‌ها از خاک خارج شدند و جداسازی مجدد قارچ‌ها و آُمیست‌ها از بافت ریشه روی محیط‌های کشت PDA، PARP و PARPH انجام شد.

بیماری‌زایی جدایه‌های *Alternaria* sp. 1 و *N. mediterraneum* به دست‌آمده از شاخه، روی شاخه-های بریده نارنگی محلی مورد آزمون قرار گرفت. برای این منظور، از درختان نارنگی محلی شاخه‌هایی به طول ۴۰ سانتی‌متر جدا شد و در هر شاخه با استفاده از یک چاقوی سترون، یک برش عمودی به طول پنج میلی‌متر تا محل کامبیوم ایجاد شد. از حاشیه پرگنه‌های هفت روزه هر یک از جدایه‌ها روی محیط کشت PDA، یک بلوک به قطر پنج میلی‌متر برداشته شد و روی بخش برش‌یافته شاخه‌ها قرار داده شد و محل مایه‌زنی با پنبه مرطوب

خاک به صورت یکنواخت در حفره‌ها ریخته شد. مایه‌زنی نهال‌های شاهد با استفاده از آب مقطر سترون انجام شد. برای تهیه زادمایه جدایه‌های *R. solani* از دانه‌های گندم استفاده شد (Muyolo et al., 1993). برای مایه‌زنی نهال‌ها، خاک اطراف نهال‌ها تا عمق ۱۰-۸ سانتی‌متری کنار زده شد و در هر گلدان، ۱۰ عدد بذر گندم مایه‌زنی‌شده در مجاورت ریشه‌ها قرار داده شد. مایه‌زنی نهال‌های شاهد با استفاده از دانه‌های گندم بدون قارچ انجام شد.

برای تهیه زادمایه *M. phaseolina*، پنج لیتر از محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز مایع (PDB) در جعبه‌های پلاستیکی سترون ریخته شد و پس از مسدود نمودن درب آنها با ورقه‌های آلومینیومی، در دستگاه اتوکلاو سترون شدند. از حاشیه پرگنه‌های هفت روزه *M. phaseolina* روی محیط کشت PDA بلوک‌هایی به قطر پنج میلی‌متر به جعبه‌های حاوی محیط کشت PDB منتقل شدند و جعبه‌ها به مدت ۱۲ هفته در دمای آزمایشگاه نگهداری شدند. پس از این مدت، محیط کشت حذف شد و ریزسختینه‌ها سه مرتبه با آب مقطر سترون شستشو داده شدند. توده‌های ریزسختینه به مدت یک هفته در تشتک‌های پتری سترون در انکوباتور با دمای ۳۵ درجه سلسیوس خشک شدند و پس عبور دادن از الک ۳۲۵ مش، تا زمان استفاده در فلاسک‌های سترون در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شدند (Goudarzi et al. 2008). قبل از مایه‌زنی نهال‌ها، درصد جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها روی محیط کشت WA، ۸۰ درصد تعیین شد. شمارش ریزسختینه‌ها در هر گرم ریزسختینه، با سوسپانسیون رقیق‌شده ریزسختینه و با استفاده از لام هموسیتمتر انجام شد. با در نظر گرفتن فاکتور رقت، تعداد ریزسختینه‌ها در هر گرم به طور تقریبی ۸۰۰۰۰۰ عدد تعیین شد و مقدار نهایی ریزسختینه مورد نیاز برای مایه‌زنی خاک تیمارهای دارای قارچ، محاسبه شد. جمعیت نهایی ریزسختینه در خاک مخلوط‌شده با ریزسختینه، به روش رقیق کردن روی محیط کشت WA

Phoma و *Alternaria Macrophomina* و دو جنس آُمیست *Pythium* و *Phytophthora* گروه‌بندی شدند. از مجموع جدایه‌های قارچی به دست‌آمده از ریشه، ۲۱۳۰ جدایه (۹۳/۸۵ درصد) براساس رنگ و نرخ رشد پرگنه و ویژگی‌های ریخت‌شناسی ساختارهای میکروسکوپی شامل سلول‌های کنیدیوم‌زا، ماکروکنیدیوم‌ها و میکروکنیدیوم‌ها به عنوان جنس *Fusarium* شناسایی شدند. این جدایه‌ها روی محیط کشت PDA دارای رشد نسبتاً سریعی بودند. پرگنه‌های جدایه‌های مختلف *Fusarium* به رنگ سفید تا شیری، سفید مایل به صورتی یا ارغوانی مشاهده شدند و میسلیم‌های هوایی به صورت بسیار اندک تا فراوان به رنگ سفید تا بنفش مایل به ارغوانی روی سطح پرگنه‌ها تشکیل شدند. در برخی از جدایه‌ها، رنگدانه‌های بنفش تا قهوه‌ای در محیط کشت و یا رنگدانه‌های مایل به زرد تا نارنجی در سطح زیرین پرگنه‌ها تشکیل شد. اسپورودوکیوم‌ها در محیط کشت CLA پس از ۲۱-۱۰ روز به صورت بسیار اندک تا بسیار فراوان تشکیل شدند. ماکروکنیدیوم‌ها دارای اشکال تقریباً استوانه‌ای تا داسی شکل، باریک تا نسبتاً پهن با سه تا هفت بند عرضی بودند. میکروکنیدیوم‌ها به اشکال تخم‌مرغی، بیضوی، کلیوی، دوکی، گریزی و سوسپسی شکل، بدون بند عرضی یا دارای یک تا دو بند عرضی و به صورت مجتمع‌شده در سر دروغین و یا در زنجیر به فراوانی در میسلیم هوایی تشکیل شدند. سلول‌های کنیدیوم‌زا از نوع مونوفیالید، پلی‌فیالید و یا هر دو بودند. در برخی از جدایه‌ها، کلامیدوسپورهای کروی تا تخم‌مرغی شکل به صورت انفرادی یا دوتایی، اما گاهی در زنجیرهای کوتاه یا مجتمع‌شده با سطح صاف یا ناصاف میسلیم هوایی و روی سطح آگار پس از دو تا شش هفته در محیط کشت CLA تشکیل شدند. برخی از جدایه‌ها فاقد کلامیدوسپور بودند. چهار جدایه قارچی (۰/۱۷ درصد) از مناطق رودان و میناب به جنس *Rhizoctonia* تعلق داشتند. پرگنه‌های این جدایه‌ها در ابتدا بی‌رنگ بودند و رنگ آنها به

سترون و پارافیلیم پوشانده شد. هر یک از جدایه‌ها روی سه شاخه مایه‌زنی شدند و مایه‌زنی تیمارهای شاهد با قطعات آگار بدون قارچ انجام شد. تمام شاخه‌ها به مدت یک ماه در انکوباتور با دمای ۲۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند و ظهور نشانه‌های بیماری به صورت منظم مورد بررسی قرار گرفت (Adesemoye 2014). زادمایه جدایه‌های *C. gloeosporioides* شامل سوسپانسیون کنیدیوم با غلظت ۱۰^۶ کنیدیوم بر میلی‌لیتر آب مقطر سترون، از پرگنه‌های رشدیافته روی محیط کشت PDA تهیه شد (Riolo et al. 2021). برای مایه‌زنی نهال‌ها، به وسیله یک اسکالپل سترون، زخم‌های کوچکی روی بخش‌های انتهایی شاخه‌های نهال‌ها ایجاد شد و شاخه‌ها با ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون کنیدیوم جدایه‌ها محلول‌پاشی شدند. مایه‌زنی شاخه‌های نهال‌های شاهد با آب مقطر سترون انجام شد. شاخه‌های مایه‌زنی‌شده به مدت ۴۸ ساعت با کیسه‌های پلاستیکی شفاف پوشانده شدند. نهال‌ها به مدت دو ماه در گلخانه با دما و رطوبت نسبی محیط نگهداری شدند و ظهور نشانه‌های خشکیدگی سرشاخه به صورت منظم مورد بررسی قرار گرفت. در پایان دوره آزمایش، جداسازی مجدد بیمارگرها از حاشیه بافت‌های دارای نشانه‌های خشکیدگی روی محیط کشت PDA انجام شد.

نتایج

جداسازی و شناسایی جدایه‌های قارچی و آُمیست

در مجموع، ۲۱۶۵ جدایه قارچی و ۱۴۷ جدایه آُمیست از ریشه‌های درختان نارنگی و پرتقال محلی با پایه بکرایی و لیمو مکزیکی دارای نشانه‌های زوال و ۱۹۰۶ جدایه قارچی از شاخه‌های دارای نشانه‌های سرخشکیدگی جداسازی شدند. براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی پرگنه‌ها و ساختارهای میکروسکوپی، جدایه‌های به دست‌آمده از ریشه در پنج جنس قارچی *Rhizoctonia*، *Fusarium*

تدریج به سفید تغییر یافت. ریشه‌ها دارای انشعاب قائمه بودند و در محل انشعاب کمی فرورفتگی مشاهده شد. سختینه‌ها در مرکز و اطراف پرگنه‌ها تشکیل شدند که در ابتدا به رنگ سفید و پس از چند روز به رنگ قهوه‌ای تیره تا سیاه مشاهده شدند. سطح زیرین پرگنه‌ها در محل تشکیل سختینه کمی تیره بود. پرگنه‌ها فاقد کنیدیوم بودند. بیست و پنج جدایه (۱/۱ درصد) به عنوان جنس *Macrophomina* شناسایی شدند. پرگنه‌های این جنس روی محیط کشت PDA در ابتدا بی‌رنگ بودند و پس از چند روز، رنگ آنها به خاکستری تغییر یافت. ریزسختینه‌های کروی تا مستطیلی شکل یا نامنظم پس از چهار تا پنج روز روی محیط کشت PDA تشکیل شدند. تشکیل پیکنیدیوم در هیچ یک از جدایه‌ها مشاهده نشد. تعداد ۲۸۹ جدایه (۱۶/۶۸ درصد) براساس دارا بودن ریشه‌های بدون بند و ویژگی‌های ریخت‌شناسی اسپورانژیوم در جنس *Phytophthora* قرار داده شدند. پرگنه‌های این جدایه‌ها روی محیط کشت CMA بی‌رنگ و دارای رشد نسبتاً سریع بودند. اسپورانژیوم‌ها بی‌رنگ، انتهایی، سرپستانک‌دار، غیر ریزان، تخم‌مرغی و گاهی واژگلابی شکل بودند. کلامیدوسپورهای کروی با دیواره نسبتاً ضخیم و صاف پس از ۱۴-۱۲ روز به صورت میانی یا انتهایی روی ریشه‌ها تشکیل شدند. در هیچ یک از جدایه‌ها آگونیوم مشاهده نشد.

قارچ‌های جداسازی شده از شاخه‌های دارای نشانه‌های خشکیدگی براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی در سه جنس *Colletotrichum*، *Neofusicoccum* و *Alternaria* دسته‌بندی شدند. پرگنه‌های *Alternaria* روی محیط کشت PCA به رنگ سبز زیتونی تا سبز تیره و دارای رشد سریع بودند. رشد پرگنه‌ها روی محیط کشت PDA آهسته‌تر بود و به رنگ سبز روشن تا خاکستری مشاهده شدند. کنیدیوفورها سیمپودیال، به صورت جانبی روی ریشه، ساده و بدون انشعاب بودند. کنیدیوم‌ها به اشکال تخم‌مرغی یا بیضوی، با بندهای عرضی، طولی و یا مورب، به رنگ زیتونی تا

قهوه‌ای روشن یا کم‌رنگ و به فراوانی در زنجیره‌های منشعب تشکیل شدند. ویژگی‌های ریخت‌شناسی ۲۱۶ جدایه (۱۰/۵۶ درصد) با توصیف جنس‌های متعلق به خانواده *Botryosphaeriaceae* مطابق بود. این جدایه‌ها روی محیط کشت PDA دارای پرگنه‌هایی به رنگ سبز تیره تا خاکستری با رشد سریع بودند. تشکیل پیکنیدیوم پس از گذشت ۳۵ روز روی محیط کشت PDA در هیچ یک از جدایه‌ها مشاهده نشد. کنیدیوم‌ها شفاف یا دارای رنگدانه بودند. این جدایه‌ها به جنس *Neofusicocum* تعلق داشتند. سایر قارچ‌های به دست آمده از شاخه با فراوانی ۱۹ جدایه (۰/۹۲) به جنس *Colletotrichum* تعلق داشتند. پرگنه‌های این جدایه‌ها روی محیط کشت PDA در دمای ۲۷ درجه سلسیوس دارای رشد نسبتاً سریع بودند. رنگ پرگنه‌ها در ابتدا سفید بود و به تدریج به قهوه‌ای کم‌رنگ تغییر یافت. میسلیم‌های هوایی به رنگ سفید تا خاکستری مشاهده شدند. پس از چهار تا پنج روز روی محیط کشت PDA، توده‌های کنیدیومی به رنگ نارنجی در سطح پرگنه‌ها تشکیل شد. کنیدیوم‌ها بی‌رنگ، تک یاخته‌ای، استوانه‌ای تا دوکی شکل و دارای دیواره نازک و صاف بودند.

شناسایی مولکولی جدایه‌ها

شناسایی جدایه‌های قارچی و آمیست در سطح مولکولی از طریق تکثیر و توالی‌یابی بخشی از ناحیه ITS-rDNA برای تمام جدایه‌های منتخب و بخشی از ژن *TEF-1a* برای جدایه‌های *Fusarium* انجام شد. با استفاده از جفت آغازگرهای ITS1/ITS4 و ITS5/ITS4 قطعاتی به طول حدود ۵۰۰ جفت باز و با استفاده از جفت آغازگر EF1/EF2 قطعاتی به طول ۶۵۰ جفت باز تکثیر شدند. براساس جستجوی BLAST، جدایه‌های قارچی به دست آمده در این تحقیق، با گونه‌های *F. solani*، *F. M. phaseolina*، *R. solani*، *F. acutatum*، *proliferatum*، *C. mediterraneum*، *Alternaria* sp. و *N.*

Pythium و *Alternaria* به دست‌آمده از ریشه، در سطح مولکولی مورد شناسایی قرار نگرفتند. جدایه‌های *Alternaria* به دست‌آمده از شاخه، براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی پرگنه به شش گروه دسته‌بندی شدند (*Alternaria* sp. 1 تا *Alternaria* sp. 6). رس شماره‌های بانک ژن جدایه‌های قارچی و اُمیست مورد استفاده در تجزیه و تحلیل تبارزایی در جدول ۱ نشان داده شده است.

gloeosporioides دارای بیشترین مشابهت توالی بودند. در گروه اُمیست‌ها، فقط گونه *P. nicotianae* در سطح مولکولی شناسایی شد. جدایه‌های *Fusarium* براساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی پرگنه به پنج گروه دسته‌بندی شدند؛ اما فقط سه گروه نخست (*F. solani*، *F. proliferatum* و *F. acutatum*) که از فراوانی بیشتری در بین سایر جدایه‌ها برخوردار بودند، با استفاده از آزمون‌های مولکولی شناسایی شدند. جدایه‌های

جدول ۱. منبع و رس شماره‌های بانک ژن جدایه‌های قارچی و شبه‌قارچی مورد استفاده در تجزیه و تحلیل تبارزایی

Table 1. Source and GenBank accession numbers of fungal and oomycota isolates included in phylogenetic analysis

Species	Isolate	Region	ITS-rDNA	TEF-1 α
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	CBS 115476	South Africa	KF766151.1	-
<i>Colletotrichum abscissum</i>	LGMF1436	Brazil	KX059314.1	-
<i>Colletotrichum abscissum</i>	LGMF1421	Brazil	KX059313.1	-
<i>Colletotrichum fructicola</i>	CBS 125395	New Zealand	JX010172.1	-
<i>Colletotrichum fructicola</i>	ICMP 18120	New Zealand	JX010182.1	-
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	18	Iran (Siyahoo)	OP749866	-
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	CBS 132509	Netherlands	MH866044.1	-
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	CBS 132465	Netherlands	MH866040.1	-
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	CBS 132460	Netherlands	MH866039.1	-
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	CBS 132459	Netherlands	MH866038.1	-
<i>Colletotrichum karstii</i>	CBS 106.91	Netherlands	JQ005220.1	-
<i>Colletotrichum karstii</i>	CBS 128550	Netherlands	JQ005219.1	-
<i>Colletotrichum limeticola</i>	CBS 114.14	Netherlands	MH854629.1	-
<i>Colletotrichum limeticola</i>	CBS 114.14	Netherlands	JQ948193.1	-
<i>Colletotrichum musae</i>	CBS 192.31	New Zealand	JX010143.1	-
<i>Colletotrichum musae</i>	CBS 116870	New Zealand	JX010146.1	-
<i>Colletotrichum musae</i>	ICMP 17817	New Zealand	JX010142.1	-
<i>Colletotrichum siamense</i>	ICMP 12567	New Zealand	JX010250.1	-
<i>Colletotrichum siamense</i>	DAR 76934	New Zealand	JX010270.1	-
<i>Colletotrichum siamense</i>	ICMP 18121	New Zealand	JX010245.1	-
<i>Colletotrichum tropicale</i>	ICMP 18672	China	JX010275.1	-
<i>Colletotrichum tropicale</i>	CBS 124943	China	JX010277.1	-
<i>Colletotrichum viniferum</i>	CAUG27	Netherlands	KP145440.1	-
<i>Colletotrichum viniferum</i>	gg4	China	JN412802.1	-
<i>Colletotrichum viniferum</i>	yg1	China	JN412804.1	-
<i>Colletotrichum wuxiense</i>	JS1A32	China	KU251591.1	-
<i>Fusarium acuminatum</i>	MAFF 236716	Japan	AB587002.1	AB674280.1
<i>Fusarium acutatum</i>	1	Iran (Siyahoo)	OP748892	OP765891
<i>Fusarium acutatum</i>	CBS 402.97	Netherlands	MH862652.1	MT010989.1
<i>Fusarium acutatum</i>	CBS 131573	Netherlands	KR071683.1	KU711682.1
<i>Fusarium asiaticum</i>	MAFF 240264	Japan	AB586991.1	AB674269.1
<i>Fusarium avenaceum</i>	MAFF 239206	Japan	AB587016.1	AB674293.1
<i>Fusarium decemcellulare</i>	MAFF 238422	Japan	AB587018.1	AB674295.1
<i>Fusarium decemcellulare</i>	MAFF 238421	Japan	AB587017.1	AB674294.1
<i>Fusarium equiseti</i>	MAFF 236723	Japan	AB587000.1	AB674278.1
<i>Fusarium equiseti</i>	MAFF 236434	Japan	AB586999.1	AB674277.1
<i>Fusarium graminearum</i>	MAFF 240270	Japan	AB586992.1	AB674270.1
<i>Fusarium incarnatum</i>	MAFF 236521	Japan	AB586988.1	AB674267.1
<i>Fusarium kyushuense</i>	NRRL 6490	Japan	AB587020.1	AB674297.1
<i>Fusarium kyushuense</i>	MAFF 237645	Japan	AB587019.1	AB674296.1
<i>Fusarium langsethiae</i>	FRC T-1000	Japan	AB587023.1	AB674300.1
<i>Fusarium langsethiae</i>	CBS 113234	Japan	AB587021.1	AB674298.1
<i>Fusarium langsethiae</i>	FRC T-0992	Japan	AB587022.1	AB674299.1
<i>Fusarium lateritium</i>	MAFF 235344	Japan	AB587004.1	AB674281.1

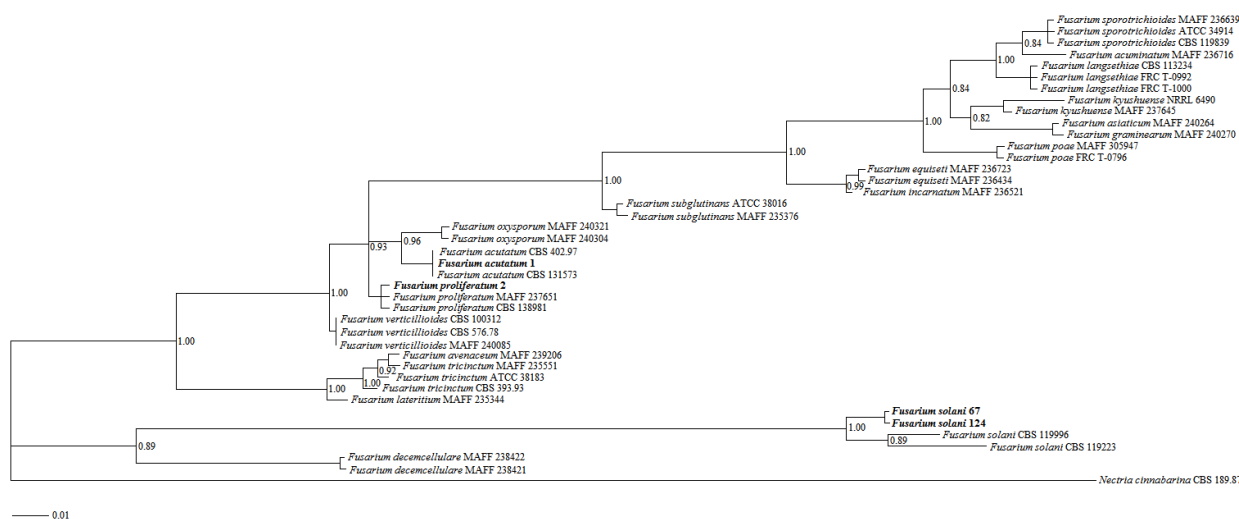
<i>Fusarium oxysporum</i>	MAFF 240321	Japan	AB586994.1	AB674272.1
<i>Fusarium oxysporum</i>	MAFF 240304	Japan	AB586993.1	AB674271.1
<i>Fusarium poae</i>	MAFF 305947	Japan	AB587024.1	AB674302.1
<i>Fusarium poae</i>	FRC T-0796	Japan	AB586983.1	AB674301.1
<i>Fusarium proliferatum</i>	2	Iran (Siyahoo)	OP748853	OP765890
<i>Fusarium proliferatum</i>	MAFF 237651	Japan	AB587007.1	AB674284.1
<i>Fusarium proliferatum</i>	CBS 138981	Netherlands	KT716199.1	KT716210.1
<i>Fusarium solani</i>	67	Iran (Siyahoo)	OP748850	OP765888
<i>Fusarium solani</i>	124	Iran (Roodan)	OP748851	OP765889
<i>Fusarium solani</i>	CBS 119996	France	JX435202.1	HE647962.1
<i>Fusarium solani</i>	CBS 119223	Hungary	JX435203.1	HE647959.1
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	MAFF 236639	Japan	AB587027.1	AB674305.1
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	ATCC 34914	Japan	AB587025.1	AB674303.1
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	CBS 119839	Japan	AB587026.1	AB674304.1
<i>Fusarium subglutinans</i>	MAFF 235376	Japan	AB587009.1	AB674286.1
<i>Fusarium subglutinans</i>	ATCC 38016	Japan	AB587008.1	AB674285.1
<i>Fusarium tricinctum</i>	ATCC 38183	Japan	AB587028.1	AB674264.1
<i>Fusarium tricinctum</i>	CBS 393.93	Japan	MH862424.1	AB674263.1
<i>Fusarium tricinctum</i>	MAFF 235551	Japan	AB587030.1	AB674262.1
<i>Fusarium verticillioides</i>	CBS 100312	Japan	AB587011.1	AB674288.1
<i>Fusarium verticillioides</i>	CBS 576.78	Japan	MH861171.1	KU604383.1
<i>Fusarium verticillioides</i>	MAFF 240085	Japan	AB587012.1	AB674289.1
<i>Macrophomina euphorbiicola</i>	SP3PY	USA	OM956151.1	-
<i>Macrophomina euphorbiicola</i>	SP4PY	USA	OM956152.1	-
<i>Macrophomina euphorbiicola</i>	SP5PY	USA	OM956153.1	-
<i>Macrophomina phaseolina</i>	14	Iran (Siyahoo)	OP748926	-
<i>Macrophomina phaseolina</i>	24	Iran (Siyahoo)	OP748926	-
<i>Macrophomina phaseolina</i>	CBS 126649	Netherlands	MH864184.1	-
<i>Macrophomina phaseolina</i>	CBS 126639	Netherlands	MH864181.1	-
<i>Macrophomina phaseolina</i>	CBS 126636	Netherlands	MH864180.1	-
<i>Macrophomina phaseolina</i>	KARE885	USA	MN166021.1	-
<i>Macrophomina phaseolina</i>	CBS 162.25	Portugal	KF531826.1	-
<i>Macrophomina phaseolina</i>	ABMp02	China	KP859580.1	-
<i>Macrophomina pseudophaseolina</i>	CPC 21528	Netherlands	KF951802.1	-
<i>Macrophomina pseudophaseolina</i>	CPC 21527	Netherlands	KF951801.1	-
<i>Macrophomina pseudophaseolina</i>	CPC 21525	Netherlands	KF951800.1	-
<i>Macrophomina pseudophaseolina</i>	CPC 21524	Netherlands	KF951799.1	-
<i>Macrophomina pseudophaseolina</i>	CPC 21511	Netherlands	KF951798.1	-
<i>Macrophomina pseudophaseolina</i>	CPC 21502	Netherlands	KF951797.1	-
<i>Monilochaetes infuscans</i>	CBS 869.96	Netherlands	JQ005780.1	-
<i>Nectria cinnabarina</i>	CBS 189.87	Japan	HM484699.1	HM484671.1
<i>Neofusicoccum arbuti</i>	CBS 116573	Netherlands	KX464153.1	-
<i>Neofusicoccum arbuti</i>	CBS 116574	Netherlands	KX464154.1	-
<i>Neofusicoccum arbuti</i>	CBS 116575	Netherlands	KX464155.1	-
<i>Neofusicoccum arbuti</i>	CBS 116576	Netherlands	KX464156.1	-
<i>Neofusicoccum austral</i>	CBS 122026	Netherlands	KX464161.1	-
<i>Neofusicoccum austral</i>	CBS 115185	Netherlands	FJ150696.1	-
<i>Neofusicoccum austral</i>	CBS 125786	Netherlands	MH863758.1	-
<i>Neofusicoccum batangarum</i>	CBS 127348	Netherlands	MH864533.1	-
<i>Neofusicoccum batangarum</i>	CBS 124922	Netherlands	MH863424.1	-
<i>Neofusicoccum batangarum</i>	CBS 444.83	Netherlands	MH864533.1	-
<i>Neofusicoccum italicum</i>	CBS 140889	Netherlands	MT587479.1	-
<i>Neofusicoccum luteum</i>	CBS 562.92	Netherlands	MH862376.1	-
<i>Neofusicoccum mangroviorum</i>	CBS 111492	China	MT587491.1	-
<i>Neofusicoccum mangroviorum</i>	CBS 140739	China	MT587492.1	-
<i>Neofusicoccum mangroviorum</i>	CBS 140740	China	MT587493.1	-
<i>Neofusicoccum mediterraneum</i>	11	Iran (Minab)	OP749920	-
<i>Neofusicoccum mediterraneum</i>	206	Iran (Roodan)	OP749920	-
<i>Neofusicoccum mediterraneum</i>	121718	USA	NR_160225.1	-
<i>Neofusicoccum mediterraneum</i>	CPC 13137	Netherlands	EU040221.1	-
<i>Neofusicoccum mediterraneum</i>	CPC 27932	Brazil	MW413875.1	-
<i>Neofusicoccum parvum</i>	CBS 145795	China	MN128646.1	-
<i>Neofusicoccum parvum</i>	CBS 145794	Italy	MN128645.1	-
<i>Neofusicoccum parvum</i>	CBS 145624	Italy	MN611181.1	-
<i>Phytophthora cactorum</i>	CBS 231.30	Netherlands	KX017610.1	-
<i>Phytophthora cactorum</i>	CBS 108.09	Canada	KJ128036.1	-
<i>Phytophthora cactorum</i>	CBS 100426	Netherlands	DQ836127.1	-
<i>Phytophthora citrophthora</i>	CBS 581.69	Malaysia	MH401211.1	-
<i>Phytophthora citrophthora</i>	RK20	Iran	OM868170.1	-

<i>Phytophthora citrophthora</i>	1922	Chile	KX925550.1	-
<i>Phytophthora citrophthora</i>	JA479	Hungary	GU723287.1	-
<i>Phytophthora dauci</i>	CBS 127102	Belgium	KC478761.1	-
<i>Phytophthora dauci</i>	CBS 114039	Belgium	KC478762.1	-
<i>Phytophthora drechsleri</i>	CBS 292.35	Germany	KJ744314.1	-
<i>Phytophthora heveae</i>	CBS 958.87	Germany	KJ755106.1	-
<i>Phytophthora heveae</i>	CPHST BL67	USA	MG865505.1	-
<i>Phytophthora infestans</i>	CBS 120920	Egypt	MF680417.1	-
<i>Phytophthora infestans</i>	SAP1462	Spain	JX418021.1	-
<i>Phytophthora nicotianae</i>	11	Iran (Siyahoo)	OP748927	-
<i>Phytophthora nicotianae</i>	22	Iran (Siyahoo)	OP748927	-
<i>Phytophthora nicotianae</i>	CBS 535.92	Switzerland	AY946253.1	-
<i>Phytophthora nicotianae</i>	CBS 114343	Switzerland	DQ403794.1	-
<i>Phytophthora nicotianae</i>	PPMA 798	Brazil	ON478333.1	-
<i>Phytophthora nicotianae</i>	33C7	India	AH015040.2	-
<i>Phytophthora palmivora</i>	CBS 148.88	Malaysia	MH401200.1	-
<i>Phytophthora palmivora</i>	CBS 1113.46	Malaysia	KY475633.1	-
<i>Phytophthora palmivora</i>	CBS 298.29	Malaysia	KY475628.1	-
<i>Phytophthora palmivora</i>	CBS 179.26	Malaysia	KY475627.1	-
<i>Phytophthora sojae</i>	11_2	Uruguay	MF093644.1	-
<i>Phytophthora sojae</i>	11_1	Uruguay	MF093643.1	-
<i>Phytophthora sojae</i>	06_2	Uruguay	MF093642.1	-
<i>Phytophthium vexans</i>	CBS 119.80	Canada	AY598713.1	-

تبارنما

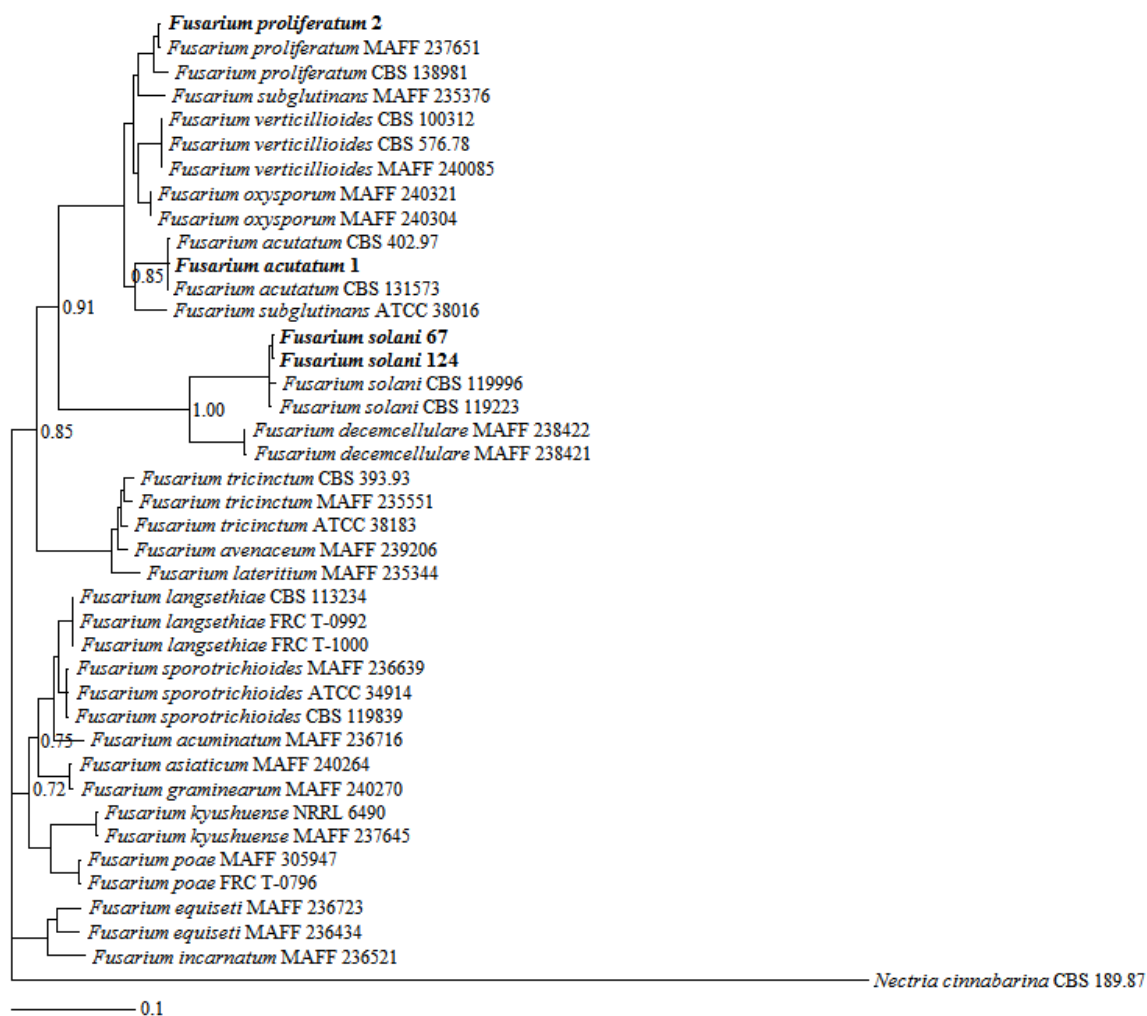
(ITS-rDNA) انتخاب شد و برای واکاوی استنتاج Bayesian مورد استفاده قرار گرفت، به ترتیب شامل K80+G، GTR+G، K80، GTR+G، SYM+I+G و SYM+G بود. درخت تبارزایی جدایه‌های قارچی و آُمیست مورد استفاده در بخش مولکولی در شکل‌های ۲ تا ۷ نشان داده شده است.

بهترین مدل‌های جایگزینی پایه که براساس معیار Akaike برای درخت تبارزایی (*Fusarium* spp. (ITS-*M. phaseolina*، *Fusarium* spp. (*TEF-1α*) rDNA)، *N. P. nicotianae* (ITS-rDNA)، *C. gloeosporioides* و *mediterraneum* (ITS-rDNA)



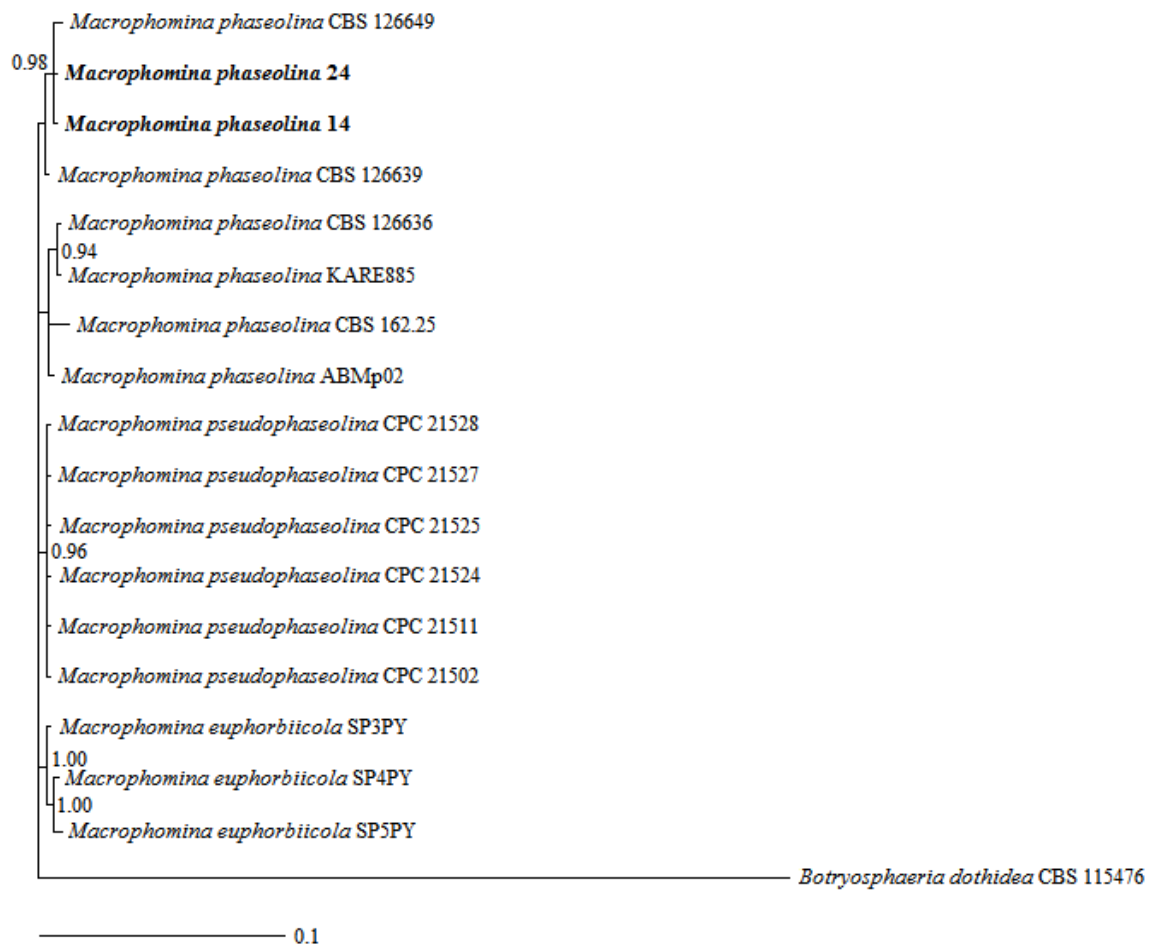
شکل ۲. تبارنمای جدایه‌های گونه‌های *Fusarium* استنباط شده از تجزیه و تحلیل Bayesian مبتنی بر داده‌های توالی ناحیه ITS-rDNA. جدایه‌های به دست آمده در این تحقیق به صورت پررنگ نشان داده شده‌اند. گونه *Nectria cinnabarina* به عنوان برون‌گروه انتخاب شده است.

Fig 2. Phylogenetic tree of *Fusarium* species inferred from Bayesian analysis based on sequence data of ITS-rDNA region. The isolates used in this study are in bold. *Nectria cinnabarina* was used as an outgroup taxon.



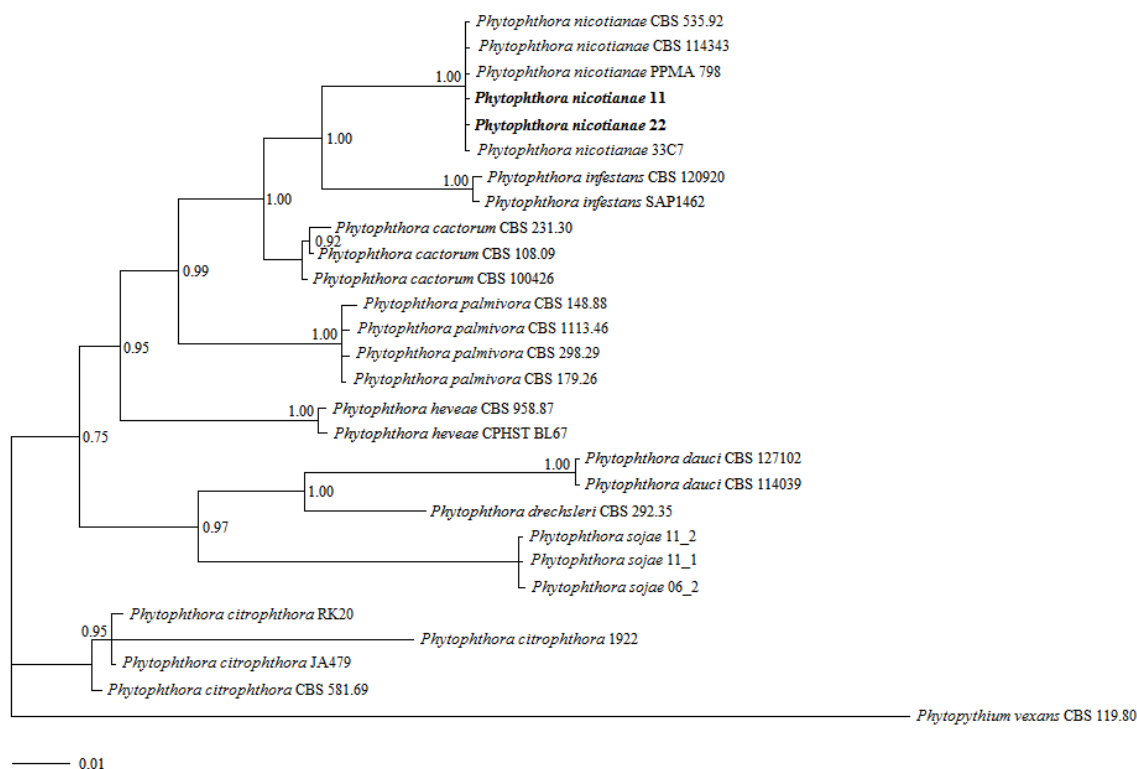
شکل ۳. تبارنمای جدایه‌های گونه‌های *Fusarium* استنباط‌شده از تجزیه و تحلیل Bayesian مبتنی بر داده‌های بخشی از توالی ژن *TEF-1α* جدایه‌های به دست آمده در این تحقیق به صورت پررنگ نشان داده شده‌اند. گونه *Nectria cinnabarina* به عنوان برون‌گروه انتخاب شده است.

Fig 3. Phylogenetic tree of *Fusarium* species inferred from Bayesian analysis based on sequence data of a part of the *TEF-1α* gene. The isolates used in this study are in bold. *Nectria cinnabarina* was used as an outgroup taxon.



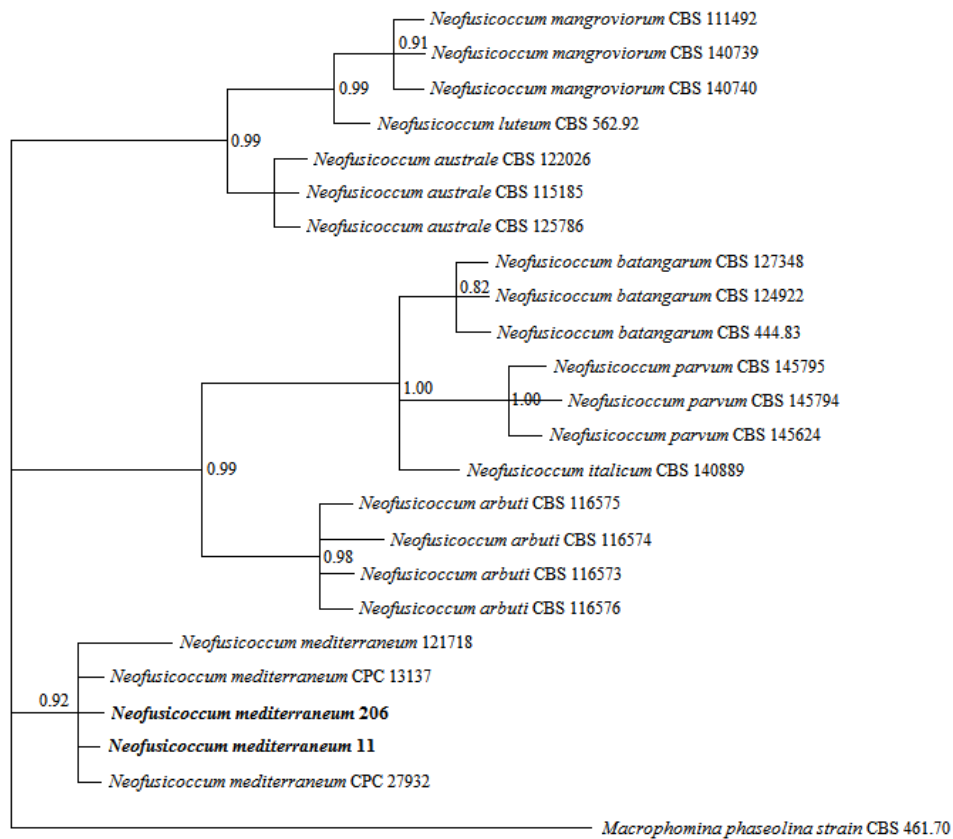
شکل ۴. تبارنمای جدایه‌های گونه‌های *Macrophomina* استنباط‌شده از تجزیه و تحلیل **Bayesian** مبتنی بر داده‌های توالی ناحیه **ITS-rDNA** جدایه‌های به دست آمده در این تحقیق به صورت پررنگ نشان داده شده‌اند. گونه *Macrophomina pseudophaseolina* به عنوان برون‌گروه انتخاب شده است.

Fig 4. Phylogenetic tree of *Macrophomina* species inferred from Bayesian analysis based on sequence data of ITS-rDNA region. The isolates used in this study are in bold. *Macrophomina pseudophaseolina* was used as an outgroup taxon.



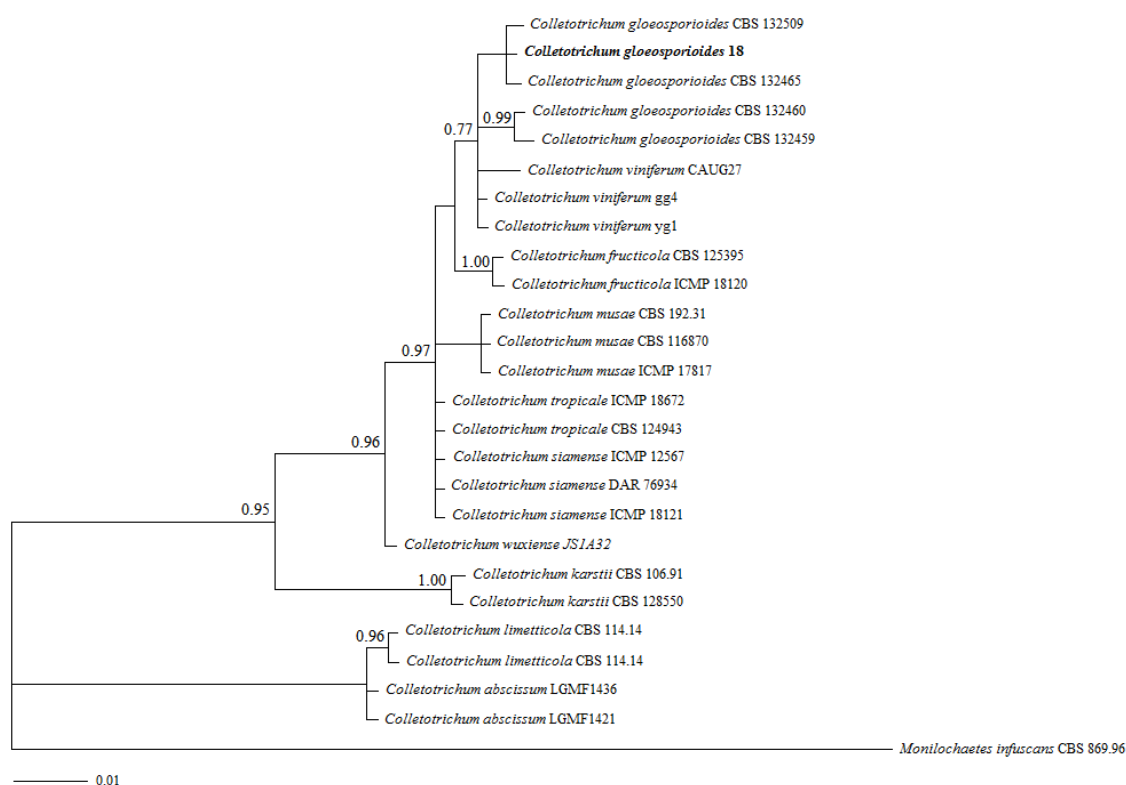
شکل ۵. تبارنمای جدایه‌های گونه‌های *Phytophthora* استنباط شده از تجزیه و تحلیل Bayesian مبتنی بر داده‌های توالی ناحیه ITS-rDNA. جدایه‌های به دست آمده در این تحقیق به صورت پررنگ نشان داده شده‌اند. گونه *Phytophthora vexans* به عنوان برون‌گروه انتخاب شده است.

Fig 5. Phylogenetic tree of *Phytophthora* species inferred from Bayesian analysis based on sequence data of ITS-rDNA region. The isolates used in this study are in bold. *Phytophthora vexans* was used as an outgroup taxon.



شکل ۶. تبارنمای جدایه‌های گونه‌های *Neofusicoccum* استنباط‌شده از تجزیه و تحلیل Bayesian مبتنی بر داده‌های توالی ناحیه ITS-rDNA. جدایه‌های به دست آمده در این تحقیق به صورت پررنگ نشان داده شده‌اند. گونه *Macrophomina phaseolina* به عنوان برون‌گروه انتخاب شده است.

Fig 6. Phylogenetic tree of *Neofusicoccum* species inferred from Bayesian analysis based on sequence data of ITS-rDNA region. The isolates used in this study are in bold. *Macrophomina phaseolina* was used as an outgroup taxon.



شکل ۷. تبارنمای جدایه‌های گونه‌های *Colletotrichum* استنباط‌شده از تجزیه و تحلیل **Bayesian** مبتنی بر داده‌های توالی ناحیه **ITS-rDNA**. جدایه به دست آمده در این تحقیق به صورت پررنگ نشان داده شده‌اند. گونه *Monilochaetes infuscans* به عنوان برون‌گروه انتخاب شده است.

Fig 7. Phylogenetic tree of *Colletotrichum* species inferred from Bayesian analysis based on sequence data of ITS-rDNA region. The isolates used in this study are in bold. *Monilochaetes infuscans* was used as an outgroup taxon.

Alternaria sp. از ریشه‌ها جداسازی شدند. در این منطقه نیز بیشترین فراوانی به جدایه‌های *Fusarium* تعلق داشت (۹۱/۱۵ درصد) و فراوانی جدایه‌های *M. phaseolina*، *Phoma* sp. و *Alternaria* sp. به ترتیب ۲/۰۶، ۰/۵۸ و ۰/۵۸ درصد تعیین شد. در این منطقه، جدایه‌های *Fusarium* شامل سه گونه *F. solani*، *F. proliferatum* و *F. acutatum* به ترتیب با فراوانی ۹۰/۲۶، ۰/۲۹ و ۰/۵۸ درصد بودند. در دو منطقه زاکین و درگز، از ریشه‌های فاقد نشانه‌های پوسیدگی، فقط جدایه‌های *F. solani* به ترتیب با فراوانی ۹/۷ و ۸/۰۲ درصد جداسازی شدند. در رودان، جدایه‌های *Fusarium* spp. و *R. solani* از ریشه‌های دارای نشانه‌های پوسیدگی

فراوانی گونه‌های قارچی و آمیست جداسازی شده از ریشه در منطقه زاکین، جدایه‌های *M. phaseolina*، *Fusarium* spp. از ریشه‌های دارای نشانه‌های پوسیدگی جداسازی شدند. بیشترین فراوانی مربوط به جدایه‌های *Fusarium* بود (۹۸/۷۹ درصد) و جدایه‌های *M. phaseolina* و *Alternaria* sp. به ترتیب با ۲/۷ و ۱/۲ درصد در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. جدایه‌های *Fusarium* شامل دو گونه *F. solani* و *F. proliferatum* به ترتیب با فراوانی ۹۷/۲۹ و ۱/۵۰ درصد بودند. در منطقه درگز، جدایه‌های *Fusarium* spp.، *M. phaseolina* و *Phoma* sp.

جداسازی شدند.

در دو منطقه زاکین و درگز، دو جنس *Pythium* و *Phytophthora* از ریشه‌های دارای پوسیدگی بکرایی و لیمو مکزیکی جداسازی شدند. پرگنه‌های *Pythium* و *Phytophthora* در زاکین به ترتیب از ۹/۲۷ و ۵ درصد قطعات ریشه و در درگز از ۱۲/۴۲ و ۴/۹۱ درصد قطعات ریشه جداسازی شدند. در هر دو منطقه، جدایه‌های *Phytophthora* به گونه *P. nicotianae* تعلق داشتند. در مناطق سیرمند و رائیز، جدایه‌های *Pythium* spp. و *P. nicotianae* از ریشه‌های دارای نشانه‌های پوسیدگی جداسازی شدند. در سیرمند، پرگنه‌های *Pythium* spp. و *P. nicotianae* به ترتیب از ۳/۲۲ و ۴/۹۸ درصد قطعات ریشه و در رائیز، از ۲/۸۱ و ۴/۰۴ درصد قطعات ریشه جداسازی شدند. در رودان و میناب، هیچ جدایه آُمیست از قطعات ریشه پایه‌های بکرایی و لیمو مکزیکی دارای زوال جداسازی نشد. در هیچ یک از مناطق مورد بررسی، جدایه‌های آُمیست از ریشه‌های درختان نارنگی و پرتقال محلی با پایه بکرایی و لیمو مکزیکی فاقد نشانه‌های زوال جداسازی نشدند. در مجموع، فراوانی *Pythium* spp. و *P. nicotianae* جداسازی‌شده از ریشه‌های درختان دارای زوال در تمام مناطق مورد بررسی به ترتیب ۴/۹۶ و ۳/۱۲ درصد تعیین شد.

فراوانی گونه‌های قارچی جداسازی‌شده از شاخه

در زاکین، جدایه‌های *N. Alternaria* spp. و *C. gloeosporioides* از شاخه‌های دارای سرخشکیدگی جداسازی شدند. بیشترین فراوانی به جدایه‌های *Alternaria* spp. تعلق داشت (۷۱/۰۱ درصد) و جدایه‌های *N. mediterraneum* و *C. gloeosporioides* به ترتیب از ۲۶/۰۸ و ۲/۸۹ درصد فراوانی برخوردار بودند. در این منطقه، بیشترین فراوانی جدایه‌های *Alternaria* به *Alternaria* sp. 1 (۴۶/۶۶ درصد) تعلق داشت و فراوانی سایر گونه‌های *Alternaria* ۲۴/۳۴ درصد تعیین شد. در

جداسازی شدند. بیشترین فراوانی به جدایه‌های *Fusarium* تعلق داشت (۹۱/۹۵ درصد) و تنها یک جدایه *R. solani* با فراوانی ۰/۳۸ درصد از ریشه‌ها جداسازی شد. در این منطقه، جدایه‌های *Fusarium* شامل دو گونه *F. solani* و *Fusarium* sp. 1 به ترتیب با فراوانی ۹۱/۴۶ و ۰/۳۸ درصد بودند. به علاوه، از ریشه‌های فاقد نشانه‌های پوسیدگی هیچ جدایه قارچی جداسازی نشد. در سیرمند، دو گونه قارچی *F. solani* و *M. phaseolina* از ریشه‌های دارای نشانه‌های پوسیدگی جداسازی شدند. بیشترین فراوانی به جدایه‌های *F. solani* تعلق داشت (۹۲/۱۵ درصد) و جدایه‌های *M. phaseolina* از ۲/۷ درصد فراوانی برخوردار بودند. در منطقه رائیز، از ریشه‌های دارای نشانه‌های پوسیدگی، تنها گونه *F. solani* با فراوانی ۹۶/۷ درصد جداسازی شد. در مناطق سیرمند و رائیز از ریشه‌های فاقد نشانه‌های پوسیدگی، *F. solani* به ترتیب با فراوانی ۳/۶۴ و ۲ درصد جداسازی شد. در میناب، جدایه‌های *Fusarium* spp. و *R. solani* از ریشه‌های دارای نشانه‌های پوسیدگی جداسازی شدند. بیشترین فراوانی به جدایه‌های *Fusarium* تعلق داشت (۹۳/۸۹ درصد) و سه جدایه *R. solani* با فراوانی ۰/۷ درصد از ریشه‌ها جداسازی شد. جدایه‌های *Fusarium* شامل دو گونه *F. solani* و *Fusarium* sp. 2 به ترتیب با فراوانی ۹۳/۶۶ و ۰/۲۳ درصد بودند. به علاوه، از ریشه‌های فاقد نشانه‌های پوسیدگی هیچ جدایه قارچی جداسازی نشد. در مجموع، فراوانی گونه‌های قارچی جداسازی‌شده از ریشه‌های درختان نارنگی و پرتقال محلی با پایه بکرایی و لیمو مکزیکی دارای زوال در تمام مناطق مورد بررسی، ۹۵/۵۴ درصد تعیین شد. بیشترین فراوانی به *F. solani* (۹۳/۵۱ درصد) تعلق داشت و پس از آن گونه‌های *M. phaseolina*، *F. acutatum*، *R. solani*، *Alternaria* sp.، *proliferatum*، *Phoma* sp.، *Fusarium* sp. 1 و *Fusarium* sp. 2 به ترتیب با فراوانی ۱/۱، ۰/۲۶، ۰/۲۶، ۰/۱۷، ۰/۰۸، ۰/۰۸، ۰/۰۴ و ۰/۰۴ درصد از ریشه‌های دارای نشانه‌های پوسیدگی

شاخه‌های فاقد نشانه‌های سرخشکیدگی، دو جدایه از جنس *Alternaria* با فراوانی ۰/۵۵ درصد جداسازی شدند. در میناب، تنها جدایه‌های *Alternaria* spp. با فراوانی ۸۱/۷۳ درصد از شاخه‌های دارای نشانه‌های سرخشکیدگی جداسازی شدند. در این منطقه، بیشترین فراوانی جدایه‌های *Alternaria* به *Alternaria* sp. 1 (۵۳/۸۴ درصد) تعلق داشت و فراوانی سایر گونه‌های *Alternaria* ۲۷/۸۸ درصد بود. به علاوه، از شاخه‌های فاقد نشانه‌های سرخشکیدگی، دو جدایه از جنس *Alternaria* با فراوانی ۰/۴۸ درصد جداسازی شد. در مجموع، فراوانی گونه‌های قارچی جداسازی شده از شاخه‌های درختان دارای زوال در تمام مناطق مورد بررسی براساس تعداد قطعات شاخه کشت شده، ۹۳/۱۸ درصد تعیین شد. بیشترین فراوانی گونه‌های قارچی جداسازی شده به *Alternaria* sp. 1 (۵۴/۲۷ درصد) تعلق داشت و پس از آن گونه‌های *Alternaria* spp. و *Alternaria* spp. به ترتیب با فراوانی ۲۷/۴۳، ۱۰/۵۶ و ۰/۹۲ درصد از شاخه‌های دارای سرخشکیدگی جداسازی شدند.

بیماری‌زایی جدایه‌های قارچی و آمیست خاک‌زاد

نخستین نشانه‌های ناشی از جدایه‌های *F. solani* حدود هشت تا نه ماه پس از مایه‌زنی به صورت زرد شدن برگ‌های انتهایی نهال‌ها ظاهر شد و با پیشروی بیماری، برگ‌ها به تدریج پژمرده و بافت‌مرده شدند و ریزش کردند. بخش انتهایی شاخه‌ها خشک و بافت‌مرده شدند و بافت‌مردگی به تدریج به سمت بخش‌های پایین‌تر شاخه ادامه یافت. پس از گذشت ۱۰ ماه، نهال‌های مایه‌زنی شده به طور کامل خشک شدند (شکل ۸a). الگوی ظهور و پیشروی نشانه‌های ناشی از جدایه‌های *F. proliferatum* با نشانه‌های ایجاد شده به وسیله جدایه‌های *F. solani* مشابه بود، هر چند که نشانه‌های ناشی از جدایه‌های *F. proliferatum* در مدت‌زمان طولانی‌تر و حدود ۱۲ ماه پس از مایه‌زنی پدیدار شدند و پس از ۱۳ تا ۱۶

منطقه درگزن نیز جدایه‌های *Alternaria* spp. و *Alternaria* spp. از شاخه‌های دارای نشانه‌های سرخشکیدگی به ترتیب با فراوانی ۷۰/۱، ۲۴/۳۳ و ۲/۳۸ درصد جداسازی شدند. بیشترین فراوانی جدایه‌های *Alternaria* به *Alternaria* sp. 1 (۴۸/۱۴ درصد) تعلق داشت و فراوانی سایر گونه‌های *Alternaria* ۲۱/۹۵ درصد بود. در هر دو منطقه مورد بررسی، هیچ جدایه قارچی از شاخه‌های فاقد نشانه‌های سرخشکیدگی جداسازی نشد. در رودان، جدایه‌های *Alternaria* spp. و *Alternaria* spp. از قطعات شاخه‌های درختان نارنگی و پرتقال محلی و لیمو مکزیکی دارای نشانه‌های سرخشکیدگی جداسازی شدند. بیشترین فراوانی به جدایه‌های *Alternaria* spp. تعلق داشت (۸۶/۱۴ درصد) و جدایه‌های *N. mediterraneum* از ۷/۸ درصد فراوانی برخوردار بودند. در این منطقه، بیشترین فراوانی جدایه‌های *Alternaria* به *Alternaria* sp. 1 (۶۲/۵ درصد) تعلق داشت و فراوانی سایر گونه‌های *Alternaria* ۲۳/۶۸ درصد بود. به علاوه، از شاخه‌های فاقد نشانه‌های سرخشکیدگی، *Alternaria* sp. 1 با فراوانی ۲/۳ درصد جداسازی شد. در سیرمند، جدایه‌های *Alternaria* spp. و *N. mediterraneum* از شاخه‌های دارای نشانه‌های سرخشکیدگی جداسازی شدند. بیشترین فراوانی به جدایه‌های *Alternaria* تعلق داشت (۸۸/۳۹ درصد) و جدایه‌های *N. mediterraneum* از ۲/۷۶ درصد فراوانی برخوردار بودند. بیشترین فراوانی جدایه‌های *Alternaria* به *Alternaria* sp. 1 (۵۸/۰۱ درصد) تعلق داشت و فراوانی سایر گونه‌های *Alternaria* ۳۰/۳۸ درصد بود. در منطقه رائیز، تنها جدایه‌های *Alternaria* spp. از شاخه‌های دارای سرخشکیدگی با فراوانی ۹۴/۱۸ درصد جداسازی شدند. در این منطقه، بیشترین فراوانی جدایه‌های *Alternaria* به *Alternaria* sp. 1 (۵۷/۸۴ درصد) تعلق داشت و فراوانی سایر گونه‌های *Alternaria* ۳۶/۳۳ درصد بود. به علاوه، از

شامل پژمردگی، خشک و بافت‌مرده شدن و ریزش برگ‌های انتهایی پدیدار شد. به علاوه، بخش‌های انتهایی شاخه‌ها خشک شدند و خشک شدن شاخه‌ها به تدریج به سمت بخش‌های پایین‌تر ادامه یافت. حدود ۱۰ ماه پس از مایه‌زنی، نهال‌های مایه‌زنی شده به طور کامل از بین رفتند (شکل ۸f). به طور کلی، در نهال‌های مایه‌زنی شده با جدایه‌های خاک‌زاد، برگ‌های تازه تشکیل شده در مقایسه با برگ‌های نهال‌های شاهد بسیار کوچک بودند و تشکیل این برگ‌ها به تدریج متوقف شد. در مورد تمام جدایه‌های خاک‌زاد، نشانه‌های آلودگی روی ریشه‌ها به صورت کاهش حجم ریشه، ایجاد زخم‌های بافت‌مرده روی ریشه‌های مویین و تغییر رنگ بافت ریشه به قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره مشاهده شد. در نهال‌های شاهد و همچنین نهال‌های مایه‌زنی شده با جدایه‌های *Pythium sp.* و *Alternaria sp.* تا پایان دوره آزمایش هیچ گونه نشانه‌های بیماری در بخش هوایی و ریشه‌ها مشاهده نشد (شکل ۸g). پس از کشت قطعات ریشه‌های آلوده روی محیط کشت PDA، جدایه‌های *F. solani*، *M. phaseolina* به ترتیب با فراوانی ۱۰۰، ۹۵/۵۵، ۸۷/۵۴، ۱۰۰ و ۹۹/۶۹ درصد از قطعات مربوطه جداسازی شدند. فراوانی جدایه‌های *P. nicotianae* به دست آمده از قطعات ریشه آلوده روی محیط کشت PARPH، ۸۴/۶۳ درصد بود.

ماه، نهال‌ها خشک شدند (شکل ۸b). نشانه‌های ناشی از جدایه‌های *F. acutatum* پس از گذشت ۱۸ ماه به صورت سرخشکیدگی بسیار جزئی شاخه‌ها مشاهده شد (شکل ۸c). نشانه‌های ناشی از جدایه‌های *R. solani* در مقایسه با سایر جدایه‌های قارچی و آُمیست در مدت کوتاه‌تری پس از مایه‌زنی پدیدار شد و پیشروی نشانه‌های بیماری روی نهال‌ها با سرعت بیشتری انجام شد. نخستین نشانه‌های بیماری، سه تا چهار ماه پس از مایه‌زنی به صورت زرد شدن برگ‌های انتهایی نهال‌ها ظاهر شد و حدود دو تا سه هفته بعد، به ریزش برگ‌ها و از بین رفتن نهال‌ها منجر شد (شکل ۸d). نخستین نشانه‌های ناشی از جدایه‌های *M. phaseolina*، هفت تا هشت ماه پس از مایه‌زنی به صورت زرد شدن برگ‌های انتهایی نهال‌ها ظاهر شد و به موازات پیشروی بیماری، نشانه‌هایی شامل پژمردگی، خشک و بافت‌مرده شدن و ریزش برگ‌های انتهایی روی نهال‌ها پدیدار شدند. به علاوه، بخش انتهایی شاخه‌ها خشک و بافت‌مرده شدند و بافت‌مردگی شاخه‌ها به تدریج به سمت بخش‌های پایین‌تر ادامه یافت. نه تا ۱۰ ماه پس از مایه‌زنی، نهال‌های مایه‌زنی شده به طور کامل از بین رفتند (شکل ۸e). نخستین نشانه‌های ناشی از جدایه‌های *P. nicotianae* حدود شش ماه پس از مایه‌زنی به صورت زرد شدن برگ‌های انتهایی نهال‌ها ظاهر شد و با پیشروی بیماری، نشانه‌هایی



شکل ۸. آزمون بیماری‌زایی گونه‌های قارچی و آُمیست روی نهال‌های نارنگی محلی با پایه بکرایی. (a) جدایه 67 *Fusarium solani*، (b) جدایه 2 *Fusarium proliferatum*، (c) جدایه 1 *Fusarium acutatum*، (d) جدایه 4 *Rhizoctonia solani*، (e) جدایه 14 *Macrophomina phaseolina*، (f) جدایه 22 *Phytophthora nicotianae*، (g) نهال شاهد

Fig 8. Pathogenicity test of fungal and oomycota species on local tangerine seedlings on Bakraee. a) *Fusarium solani* isolate 67, b) *Fusarium proliferatum* isolate 2, c) *Fusarium acutatum* isolate 1, d) *Rhizoctonia solani* isolate 4, e) *Macrophomina phaseolina* isolate 14, f) *Phytophthora nicotianae* isolate 22, g) Control seedling

بیماری‌زایی جدایه‌های قارچی هوازاد

نخستین نشانه‌های ناشی از جدایه‌های *Alternaria* sp. 1 پنج تا هفت روز پس از مایه‌زنی، به صورت لکه‌هایی به رنگ قهوه‌ای روشن در اطراف محل مایه‌زنی پدیدار شد و پس از گذشت هفت تا ۱۰ روز، رنگ لکه‌ها به قهوه‌ای تیره تغییر یافت. لکه‌ها به صورت طولی به سمت بالا و پایین محل مایه‌زنی گسترش یافتند و پیشروی آنها در بافت‌های داخلی شاخه‌ها نیز مشاهده شد. لکه‌های ناشی از جدایه‌های مختلف *Alternaria* sp. 1 از نظر سرعت پیشروی تفاوت قابل توجهی با یکدیگر نداشتند. میانگین طول لکه‌های ناشی از جدایه‌های *Alternaria* sp. 1 پس از گذشت ۳۰ روز، ۱۰۲ میلی‌متر تعیین شد (شکل ۹a). نخستین نشانه‌های ناشی از جدایه‌های *N. mediterraneum*، سه تا پنج روز پس از مایه‌زنی، به صورت لکه‌هایی به رنگ خاکستری تیره در اطراف محل مایه‌زنی پدیدار شد. پس از گذشت هفت تا ۱۰ روز، توده‌ای از ریشه‌ها و اسپوره‌های عامل بیماری به صورت پودر سیاه‌رنگ روی بافت‌های آلوده تشکیل شدند و رنگ این بافت‌ها به تدریج به سیاه تغییر یافت. لکه‌ها به صورت طولی به سمت بالا و پایین محل مایه‌زنی گسترش یافتند و پیشروی آنها در بافت‌های داخلی شاخه‌ها نیز مشاهده شد. میانگین

طول لکه‌های ایجادشده به وسیله جدایه‌های *N. mediterraneum* پس از گذشت ۳۰ روز، ۱۰۶ میلی‌متر تعیین شد (شکل ۹b). در نمونه‌های شاهد، هیچ‌گونه نشانه‌های بیماری تا پایان دوره آزمایش مشاهده نشد (شکل ۹c). نخستین نشانه‌های ناشی از جدایه‌های *C. gloeosporioides*، ۱۰ تا ۱۵ روز پس از مایه‌زنی، به صورت بافت‌مرده شدن انتهای شاخه‌ها و تغییر رنگ آنها به قهوه‌ای تیره پدیدار شدند. بافت‌مردگی به تدریج به سمت بخش‌های پایین‌تر پیشروی کرد و پیشروی آن در بافت‌های داخلی شاخه‌ها نیز مشاهده شد. نشانه‌های ناشی از جدایه‌های مختلف *C. gloeosporioides*، از نظر سرعت پیشروی تفاوت قابل توجهی با یکدیگر نداشتند. شصت روز پس از مایه‌زنی، میانگین طول سرخشکیدگی ایجادشده به وسیله جدایه‌های *C. gloeosporioides*، ۶۵ میلی‌متر تعیین شد (شکل ۱۰a). در نهال‌های شاهد، هیچ‌گونه نشانه‌های بیماری تا پایان دوره آزمایش مشاهده نشد (شکل ۱۰b). پس از کشت قطعات شاخه‌های آلوده روی محیط کشت PDA، جدایه‌های *Alternaria* sp. 1، *N. mediterraneum* و *C. gloeosporioides* به ترتیب با فراوانی ۹۲/۹۲، ۹۰/۱۰ و ۹۸ درصد از قطعات مربوطه جداسازی شدند.



شکل ۹. آزمون بیماری‌زایی گونه‌های قارچی روی شاخه‌های بریده نارنگی محلی. (a) جدایه *Alternaria* sp. 106 (b) جدایه *Neofusicoccum mediterraneum* 11 (c) تیمار شاهد

Fig 9. Pathogenicity test of fungal species on detached branches of local tangerine. a) *Alternaria* sp. isolate 106, b) *Neofusicoccum mediterraneum* isolate 11, c) Control treatment



شکل ۱۰. (a) آزمون بیماری‌زایی جدایه 18 *Colletotrichum gloeosporioides* روی نهال نارنگی محلی با پایه بکرایسی، (b) نهال شاهد

Fig 10. a) Pathogenicity test of *Colletotrichum gloeosporioides* isolate 18 on local tangerine seedlings on Bakraee, b) Control seedling

بحث

نسبت به این بیمارگر از مقاومت بیشتری برخوردار هستند (Krueger & Bender 2015). در برخی موارد نیز بیان شده است که *F. solani* یک گونه غیر بیماری‌زا برای مرکبات محسوب می‌شود و از قابلیت ایجاد نشانه‌های بیماری در این درختان برخوردار نیست. در حقیقت، *F. solani* بیمارگری با قدرت بیماری‌زایی متوسط است و به عنوان بیمارگر اولیه در ایجاد نشانه‌های زوال در درختان مرکبات محسوب نمی‌شود (Dandurand & Menge 1994). با این حال در مطالعه حاضر، هر سه جدایه مورد بررسی *F. solani*، روی نهال‌های نارنگی محلی با پایه بکرایسی بیماری‌زا بودند و حدود ده ماه پس از مایه‌زنی، نشانه‌هایی مشابه با نشانه‌های زوال مشاهده شده در باغ‌های مرکبات، روی این نهال‌ها پدیدار شد. با توجه به حضور جدایه‌های *F. solani* در تمام باغ‌های مورد بررسی و نتایج حاصل از آزمون‌های بیماری‌زایی، شاید بتوان این گونه قارچی را یکی از عوامل دخیل در وقوع بیماری زوال مرکبات در استان هرمزگان به شمار آورد و به نظر می‌رسد که *F. solani* تنها یک جزء از مجموعه پیچیده‌ای از عوامل زیستی و غیر زیستی است که درختان مرکبات را به سمت زوال هدایت می‌کنند. به نظر می‌رسد که در مناطق مورد بررسی در استان هرمزگان، آلودگی‌های ناشی از بیمارگرهایی نظیر *Ca. L. asiaticus*، گونه‌های

براساس نتایج حاصل از تحقیق حاضر، گونه *F. solani* در مقایسه با سایر گونه‌های قارچی و آُمیست خاک‌زاد، از بیشترین فراوانی و پراکنش در مناطق مورد بررسی برخوردار بود. بیماری پوسیدگی خشک ریشه یک تهدید جدی برای تولید مرکبات در بسیاری از مناطق تولید این محصول در دنیا به شمار می‌رود. این بیماری، به عنوان یکی از عوامل ایجادکننده زوال مرکبات، به ویژه در درختانی که تحت تأثیر تنش‌های زیستی و غیر زیستی قرار دارند، شناخته شده است. پوسیدگی خشک ریشه به وسیله مجموعه‌ای از گونه‌های *Fusarium* ایجاد می‌شود. *F. solani* به عنوان شایع‌ترین گونه مولد این بیماری گزارش شده است (Ezrari et al. 2022). این گونه، متابولیت‌های مختلفی تولید می‌کند که در القای پژمردگی، کاهش رشد، اختلال در حرکت روی در گیاه، انسداد آوندهای چوبی و اختلال در هدایت هیدرولیکی در شرایط تنش خشکی نقش دارند (Nemec et al. 1991; Rensburg et al. 1996). تقریباً هیچ‌یک از پایه‌های مرکبات نسبت به *F. solani* مقاوم نیستند (Krueger & Bender 2015). نتایج غربالگری ۴۵ ژنوتیپ مختلف مرکبات نشان داده است که مقاومت به *F. solani* در مرکبات امری غیر معمول است، اگرچه برخی از ژنوتیپ‌ها، نظیر ماندارین، پوملو و لمون‌ها

بیماری زوال مرکبات از نقش بسیار قابل توجهی برخوردار است. نتایج تحقیقات انجام‌شده در این زمینه نشان داده است که در درختان عاری از آلودگی‌های فیتوفتورایی که در مراحل اولیه ابتلا به بیماری میوه سبز بدون ظهور نشانه‌های برگ‌گی هستند، حدود ۳۰ درصد از ریشه‌ها از بین می‌روند (Graham et al. 2013). این یافته بیانگر نقش غالب *Ca. L. asiaticus* در پوسیدگی ریشه‌های درختان مرکبات است و نشان می‌دهد که آلودگی درختان به این باکتری بیماری‌زا می‌تواند سبب تسهیل وقوع آلودگی‌های ناشی از *Phytophthora* و نماتد ریشه شود. در حقیقت، آلودگی ریشه‌های درختان مرکبات با *Ca. L. asiaticus* در جلب زئوسپوره‌های *Phytophthora* به سمت ریشه و کاهش مقاومت ریشه‌ها نسبت به وقوع آلودگی‌های فیتوفتورایی بسیار مؤثر است. به علاوه، میزان آسیب واردشده به ریشه‌ها به دلیل وقوع آلودگی‌های توأم *Ca. L. asiaticus* و گونه‌های *Phytophthora* در مقایسه با آلودگی هر یک از بیمارگرها به تنهایی بیشتر گزارش شده است (Graham et al. 2013; Wu et al. 2017).

گونه *F. proliferatum* یک بیمارگر گیاهی به خوبی شناخته‌شده است که از گیاهان مختلفی نظیر ذرت (Logrieco et al. 1995)، برنج (Desjardins et al. 1997) و خرما (Abdalla et al. 2000) جداسازی و گزارش شده است. گونه *F. acutatum* نیز به عنوان عامل مولد پوسیدگی طوقه پیاز و عامل پژمردگی گوجه‌فرنگی معرفی شده است (Degani & Kalman 2021; Khamas et al. 2021). گونه *M. phaseolina* عامل پوسیدگی زغالی ریشه در بسیاری از گونه‌های گیاهی علفی و چوبی به شمار می‌رود. در این تحقیق، مجموع فراوانی جدایه‌های این بیمارگر در باغ‌های مرکبات منتخب در استان هرمزگان، ۱/۱ درصد تعیین شد. در مطالعه دیگری نیز *M. phaseolina* از نهال‌های لیمو مکزیک با نشانه‌های پوسیدگی ریشه از یک نهالستان مرکبات در استان هرمزگان

Phytophthora، نماتد ریشه مرکبات و همچنین تنش‌های محیطی نظیر تنش خشکی و گرمایی از عوامل محدودکننده تولید محصول مرکبات هستند.

پوسیدگی طوقه و ریشه فیتوفتورایی، مهم‌ترین و خسارت‌زاترین بیماری خاک‌زاد مرکبات محسوب می‌شود که به از بین رفتن درختان تازه استقرار یافته، کاهش عملکرد محصول و وقوع زوال تدریجی منجر می‌شود (Banihashemi 2004). در بسیاری از مطالعات، گونه‌های *Phytophthora* به عنوان بیمارگرهای اولیه و عامل ایجادکننده زوال در درختان مرکبات گزارش شده‌اند (Graham et al. 2013; Ippolito et al. 1990). در تحقیق حاضر، جدایه‌های *P. nicotianae* از پایه‌های بکرایی و لیمو مکزیک در سه منطقه سیاهو، سیرمند و رائیز با مجموع فراوانی ۱۶/۶۸ درصد جداسازی شدند. تعداد جدایه‌های به دست آمده *P. nicotianae* در هر یک از مناطق مورد بررسی در این تحقیق در مقایسه با جدایه‌های *F. solani* بسیار کم‌تر بود. کاهش رشد ریشه‌ها به وسیله یک عامل آلوده‌کننده ریشه نظیر *F. solani*، به طور مستقیم و یا از طریق تأثیر بر رشد میزبان، به کاهش جمعیت گونه‌های *Phytophthora* منجر می‌شود. وجود جمعیت‌های فراوان *P. nicotianae* در ریزوسفر با تراکم بالای ریشه‌های تغذیه‌کننده گیاه میزبان در ارتباط است. کاهش توده ریشه‌های تغذیه‌کننده درختان مرکبات به دلیل استقرار آلودگی‌های ناشی از *F. solani* به کاهش جمعیت‌های *P. nicotianae* منجر می‌شود (Dandurand & Menge 1993). در حقیقت، آلودگی ریشه‌ها با *F. solani* به کاهش جایگاه‌های قابل دسترس برای استقرار آلودگی‌های ناشی از *P. nicotianae* منجر می‌شود و از این‌رو، تراکم جمعیت‌های این بیمارگر را در ریشه‌ها و ریزوسفر تحت تأثیر قرار می‌دهد (Dandurand & Menge 1994). برهمکنش گونه‌های *Phytophthora* و *Ca. L. asiaticus*، عامل بیماری میوه سبز مرکبات، در وقوع

سایر گونه‌های متعلق به خانواده *Botryosphaeriaceae* از شاخه‌های درختان نارنگی و پرتقال محلی و لیمو مکزیکی دارای نشانه‌های سرخشکیدگی جداسازی نشدند. با این حال، مداخله گونه‌های دیگری از این خانواده در ایجاد سرخشکیدگی شاخه‌های درختان مرکبات امری محتمل است و نتیجه‌گیری در این زمینه به انجام بررسی‌هایی بیشتری نیاز دارد. در کالیفرنیا، اسپانیا و ایتالیا، گونه *N. mediterraneum* به عنوان عامل سرخشکیدگی گسترده درختان زیتون معرفی شده است و براساس نتایج آزمون‌های بیماری‌زایی، *N. mediterraneum* در مقایسه با سایر گونه‌های خانواده *Botryosphaeriaceae* به عنوان تازنده‌ترین گونه تشخیص داده شد (Brunetti et al. 2022; Moral et al. 2010, 2017; Romero et al. 2007; Urbez-Torres et al. 2013). در بررسی دیگری، پنج گونه از جنس *Neofusicoccum* از جمله *N. mediterraneum* به عنوان عوامل مولد سرخشکیدگی و زوال درختان اوکالیپتوس در ایتالیا معرفی شدند. نتایج آزمون‌های بیماری‌زایی نشان داد که اگرچه *N. mediterraneum* در بین گونه‌های شناسایی شده از بیشترین فراوانی برخوردار نیست، اما در مقایسه با سایر گونه‌های *Neofusicoccum* تازنده‌ترین گونه است (Deidda et al. 2016). نتایج مطالعات مشابهی در استرالیا و نیوزلند نیز نشان داده است که گونه‌های متعلق به خانواده *Botryosphaeriaceae* در ایجاد بیماری‌های تنه انگور نقش دارند (Billones- Baaijens & Savocchia 2019). به طور کلی، بیماری‌های ناشی از گونه‌های خانواده *Botryosphaeriaceae* با وقوع تنش‌های محیطی مختلف در ارتباط هستند. قارچ‌های *Botryosphaeriaceae* قادر به زنده ماندن در شرایط محیطی نامساعد هستند و گیاهانی را که تحت تأثیر تنش‌های محیطی ضعیف شده‌اند، به سهولت آلوده می‌کنند. تغییرات آب و هوایی، در ظهور و گسترش بیماری‌های ناشی از این بیمارگرها نقش تعیین‌کننده‌ای دارند. استان

جداسازی و گزارش شد (Goudarzi et al. 2018). گونه *R. solani* به عنوان عامل مرگ گیاهچه از دامنه وسیعی از گونه‌های گیاهی از جمله لوبیا، فلفل، سیب‌زمینی، یونجه، پنبه و چای گزارش شده است (Woodhall et al. 2022). درصد مجموع فراوانی جدایه‌های *R. solani* در مناطق مورد بررسی ۰/۱۷ درصد بود و تنها دو جدایه از این بیمارگر از مناطق رودان و میناب جداسازی شدند. به طور کلی، *R. solani* به عنوان بیمارگر قارچی رایج در باغ‌های مرکبات در مناطق مختلف دنیا گزارش نشده است. دامنه میزبانی *R. solani* عمدتاً شامل گیاهان علفی و یک‌ساله است و در موارد معدودی، پوسیدگی‌های ریشه و طوقه ناشی از این بیمارگر از میزبان‌های درختی نظیر آووکادو و مرکبات در نهالستان‌ها گزارش شده است. برای مثال، در هند، *R. solani* از گیاهچه‌های *Citrus sp.* با نشانه‌های پوسیدگی ریشه و درصد مرگ و میر ۱۷/۱ درصد جداسازی شده است (Chakravarty & Mishra 1982). این بیمارگر، میزبان‌های گیاهی را عمدتاً در مراحل اولیه رشد مورد حمله قرار می‌دهد و گیاهان مسن معمولاً نسبت به این بیمارگر مقاوم هستند.

در مطالعات متعددی، گونه‌های *Alternaria* به عنوان عوامل مولد خشکیدگی سرشاخه در میزبان‌های گیاهی مختلف گزارش شده‌اند. در مطالعات دیگری، *A. alternata* به عنوان عامل مولد سرخشکیدگی کیوی و *Gmelina arborea* به ترتیب از یونان و هند، و *A. tenuissima* به عنوان عامل سرخشکیدگی فلفل از هند گزارش شده است (Azad et al. 2016; Pramod et al. 2000; Tsahouridou & Thanassouloupoulos 2022). در استان هرمزگان، گونه‌های *Alternaria* علاوه بر مرکبات، عامل سرخشکیدگی میزبان‌های گیاهی مختلفی از جمله انبه و فلفل نیز به شمار می‌رود (داده‌های منتشر نشده).

مجموع فراوانی جدایه‌های *N. mediterraneum* در مناطق مورد بررسی در استان هرمزگان ۱۰/۵۶ درصد بود و

روی اندام‌های مختلفی نظیر میوه، برگ و شاخه پدیدار می‌شود، از یکدیگر متمایز هستند (Aiello et al. 2015; Guarnaccia et al. 2017; Huang et al. 2013; Mayorquin et al. 2019; Riolo et al. 2021). نشانه‌های بیماری سرخشکیدگی شاخه عمدتاً شامل زردی و تُنک شدن برگ‌ها، ایجاد لکه‌های بافت‌مرده روی برگ‌ها، سوختگی شاخه‌های کوچک انتهایی و ترشح صمغ از آنها، خشک شدن بخش انتهایی شاخه‌ها، کوچک شدن تاج درخت و مرگ گیاهان جوان است (Riolo et al. 2021). در سال ۲۰۲۱، *C. gloeosporioides* به عنوان گونه شایع و عامل اصلی مولد سرخشکیدگی شاخه‌های پرتقال و ماندارین از آلبانی و ایتالیا گزارش شد و *C. karstii* به صورت پراکنده و با فراوانی حدود یک‌سوم جدایه‌های *C. gloeosporioides* از درختان آلوده در این مناطق جداسازی شد. نتایج آزمون‌های بیماری‌زایی نشان داد که هر دو گونه *Colletotrichum* روی شاخه‌های گونه‌های مختلف مرکبات بیماری‌زا هستند، هرچند که جدایه‌های *C. gloeosporioides* در مقایسه با *C. karstii* تازنده‌تر بودند (Riolo et al. 2021). در مقابل، در کالیفرنیا مشخص شد که شدت بیماری سرخشکیدگی شاخه‌های مرکبات ناشی از *C. karstii* در مقایسه با *C. gloeosporioides* بیشتر است (Mayorquin et al. 2019). اختلاف در بیماری‌زایی گونه‌های *Colletotrichum* در مناطق ذکر شده ممکن است ناشی از این حقیقت باشد که جمعیت‌های *C. gloeosporioides* و *C. karstii* مرتبط با مرکبات در کالیفرنیا با جمعیت‌های این دو گونه در آلبانی و ایتالیا متفاوت هستند (Riolo et al. 2021). نتایج مطالعات دیگری که با هدف شناسایی گونه‌های *Colletotrichum* مرتبط با آنتراکنوز مرکبات در چین و اروپا انجام شد نشان داد که در میان گونه‌های *Colletotrichum* به دست‌آمده از باغ‌های مرکبات، *C. gloeosporioides* رایج‌ترین و خسارت‌زاترین گونه

هرمزگان با اقلیم نیمه گرمسیری، در معرض تغییرات آب و هوایی نظیر افزایش دما و کاهش میزان بارندگی قرار دارد. از سوی دیگر، وزش شدید بادهای گرم به ویژه طی ماه‌های خرداد و تیر، صدمات فیزیکی قابل توجهی را به درختان و درختچه‌ها در این منطقه وارد می‌کند و این صدمات، استقرار عوامل بیماری‌زای هوازا را به بافت‌های گیاهی تسهیل می‌کند. در تحقیقات مختلفی، اعضای خانواده *Botryosphaeriaceae* به ویژه گونه‌های *Lasiodiplodia* و *Neofusicoccum*، *Neoscytalidium* عنوان بیمارگرهای مخرب درختان حرا، انبه و بسیاری از گیاهان چوبی شناسایی شده‌اند که عمدتاً سبب ایجاد سرخشکیدگی و شانکر می‌شوند (Abdollahzadeh et al., 2020; Goudarzi & Moslehi 2020). گونه *N. mediterraneum* بسیار تازنده (Aggressive) است و سبب ایجاد نشانه‌های مختلفی نظیر سرخشکیدگی شاخه، تغییر رنگ بافت چوب، شانکر، زرد شدن و پژمردگی برگ‌ها، ایجاد لکه‌های قرمز-برنزه روی برگ‌ها و سوختگی شاخ و برگ درختان آلوده می‌شود. به علاوه، این بیمارگر یک گونه قارچی مقاوم به گرماسست و از این قابلیت برخوردار است که به مدت طولانی در دمای حدود ۵۰ درجه سلسیوس بقاء یابد. بر همین اساس، در مناطقی که در معرض تغییرات اقلیمی و افزایش میانگین درجه حرارت هستند، این احتمال وجود دارد که *N. mediterraneum* به یک بیمارگر گیاهی نوظهور تبدیل شود (Brunetti et al. 2022).

در این تحقیق، مجموع فراوانی جدایه‌های *C. gloeosporioides* جداسازی شده از شاخه‌های درختان نارنگی محلی، پرتقال محلی و لیمو مکزیکی دارای نشانه‌های سرخشکیدگی، ۰/۹۲ درصد تعیین شد. براساس نتایج حاصل از تحقیقات مختلف، دو بیماری سرخشکیدگی شاخه‌های مرکبات ناشی از گونه‌های *Colletotrichum* و آنتراکنوز مرکبات که نشانه‌های آن

دارای روند افزایشی بوده است (Taheri et al. 2016). به منظور شناسایی گونه‌های *Colletotrichum*، مطالعات مبتنی بر روش‌های چندفازی، نظیر مطالعه تبارنمای چندژنی ضروری است. بسیاری از ژن‌ها و نواحی ژنی، شامل *ITS-rDNA*، *CHS-1*، *CAL*، *ACT*، گلیسرآلدئید-۳-فسفات دهیدروژناز (*GAPDH*)، گلوتامین سیتتاز (*GS*)، سوپراکسید دیسموتاز (*SOD2*)، *TUB2* و *HIS3* به منظور انجام بازنگری در رده‌بندی گونه‌های کمپلکس *Colletotrichum* مورد استفاده قرار گرفته‌اند. به این دلیل که احتمال وقوع تغییر در توالی نوکلئوتیدی ژن‌های رمزکننده پروتئین‌ها در مقایسه با ناحیه *ITS-rDNA* بیشتر است، بررسی توالی این ژن‌ها برای شناسایی گونه‌های *Colletotrichum* از سودمندی بیشتری برخوردار است (Cannon et al. 2012; Weir et al. 2012). بر همین اساس، مطالعه تبارنمای چند ژنی جدایه‌های *Colletotrichum* به دست‌آمده در تحقیق حاضر نیز ممکن است به تفکیک گونه‌های بیشتری از این جنس منجر گردد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های حاصل از تحقیق حاضر، شامل جداسازی گونه‌های قارچی و آُمیست (به ویژه *F. solani* و *P. nicotianae*) از ریشه‌های بکرایی و لیمو مکزیک‌ای دارای نشانه‌های زوال، عدم حضور این عوامل در درختان سالم، اثبات بیماری‌زایی این گونه‌ها و مقایسه این یافته‌ها با نتایج حاصل از سایر مطالعات انجام‌شده در دنیا و ایران، بیانگر نقش قارچ‌ها و آُمیست‌های خاک‌زاد در وقوع زوال مرکبات در استان هرمزگان است. ریشه‌های بکرایی در مقایسه با سایر پایه‌های رایج مرکبات، بسیار سطحی است که سبب آسیب پذیرتر بودن آنها نسبت به عوامل بیمارگر خاک‌زاد می‌شود. پوسیدگی ریشه در برخی از بیماری‌های ناشی از پروکاریوت‌های بیمارگر آوندی از جمله

است (Aiello et al., 2015; Guarnaccia et al., 2017; Huang et al. 2013). در الجزایر، مراکش و تونس نیز نشانه‌های سرخشکیدگی شاخه‌های درختان مرکبات ناشی از *C. gloeosporioides* مشاهده شد، هرچند که با نشانه‌های بیماری آنتراکنوز روی میوه‌ها و برگ‌ها همراه بود (Benyahia et al. 2003; Mahiout et al. 2018; Rhaiem et al. 2016). نتایج یک بررسی در پرتغال با هدف شناسایی گونه‌های *Colletotrichum* مرتبط با بیماری آنتراکنوز مرکبات نشان داد که *C. gloeosporioides*، گونه غالب مولد این بیماری است که عمدتاً از میوه‌ها و برگ‌ها جداسازی می‌شود، در حالی که *C. karstii* بیشتر از شاخه‌های کوچک و برگ‌ها جداسازی می‌شود. براساس این نتایج، فرضیه تفاوت در ارجحیت اندام‌های گیاه میزبان برای دو گونه *Colletotrichum* مطرح شد (Ramos et al. 2016). در ایران، در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۵ بر اساس مطالعه تبارنمای مبتنی بر ناحیه *ITS-rDNA*، بتا-توبولین ۲ (*TUB2*)، هیستون ۳ (*HIS3*)، کالمودولین (*CAL*) و اکتین (*ACT*) صورت گرفت، گونه *C. fructicola* از پرتقال با نشانه‌های بیماری آنتراکنوز جداسازی و شناسایی شد (Arzanlou et al. 2015). به علاوه، در بررسی دیگری با استفاده از ۲۹۲ جدایه *Colletotrichum* به دست‌آمده از گونه‌های مختلف مرکبات در استان‌های گلستان، مازندران، گیلان و کرمان، پنج گونه *C. gloeosporioides*، *C. zelandiae*، *C. novae* و *C. karstii*، *C. siamense*، *C. fructicola* بر اساس مطالعه تبارنمای مبتنی بر ژن‌های کیتین سیتتاز (*CHS-1*)، *TUB2* و *CAL* به عنوان عوامل مولد بیماری آنتراکنوز مرکبات شناسایی شدند (Taheri et al. 2016). خشکیدگی سرشاخه‌ها و ریزش میوه پس از گل‌دهی ناشی از *C. gloeosporioides* نیز از چالش‌های شایع تولید مرکبات در شمال کشور محسوب می‌شوند و طی سال‌های گذشته، خسارت ناشی از این بیماری‌ها

سپاسگزاری

تحقیق حاضر، بخشی از نتایج پروژه تحقیقاتی با کد مصوب ۹۷۰۵۷۲-۹۷۰۱۳-۹۷-۰۶۷-۱۶۱۰-۶۲-۱۳۴ است. نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و سپاس خود را از موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور به خاطر حمایت مالی این تحقیق اعلام می‌دارند.

تعارض منافع

نویسندگان در انجام این پژوهش هیچ گونه تعارض منافی ندارند.

بیماری‌های میوه سبز و جاروک لیموترش نیز گزارش شده است. از این رو، پیشنهاد می‌شود برهمکنش عوامل مولد این بیماری‌ها و نقش نوع پایه در ایجاد پوسیدگی ریشه و وقوع بیماری زوال بررسی شود. اقداماتی نظیر استفاده از پایه‌های دارای ریشه‌های عمیق‌تر به جای پایه بکرایی در زمان احداث باغ‌های جدید، استفاده از نهال‌های گواهی شده و عاری از بیماری، مدیریت تغذیه و آبیاری، کنترل بیماری‌های خاک‌زاد و پیشگیری از وارد شدن هرگونه تنش به گیاه برای مدیریت بیماری زوال مرکبات در استان هرمزگان توصیه می‌شوند.

منابع

- Abdalla M. Y. Al-Rokibah A. Moretti A. and Mule G. 2000. Pathogenicity of toxigenic *Fusarium proliferatum* from date palm in Saudi Arabia. *Plant Disease* 84: 321-324.
- Abdollahzadeh J. Javadi A. Mohammadi Goltapeh E. Zare R. and Phillips A. J. L. 2010. Phylogeny and morphology of four new species of *Lasiodiplodia* from Iran. *Persoonia* 25: 1-10.
- Abivardi C. Izadpanah K. Saffarian A. and Sharafeh M. 1970. Plant parasitic nematodes associated with citrus decline in southern Iran. *Plant Disease Reporter* 54: 339-342.
- Adesemoy A. O. Mayorquin J. S. Wang D. H. Twizeyimana M. Lynch S. C. and Eskalen A. 2014. Identification of species of Botryosphaeriaceae causing bot gummosis in citrus in California. *Plant Disease* 98: 55-61.
- Aiello D. Carrieri R. Guarnaccia V. Vitale A. Lahoz E. and Polizzi G. 2015. Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. karstii* causing preharvest disease on *Citrus sinensis* in Italy. *Journal of Phytopathology* 163: 168-177.
- Akbarpour K. and Banihashemi Z. 1998. Distribution and severity of citrus gummosis in Fars province, Iran. *Iranian Journal of Plant Pathology* 34: 18-31 (In Persian with English Summary).
- Alizadeh H. Quaglino F. Azadvar M. Kumar S. Alizadeh A. Bolboli F. Casati P. and Bianco P. A. 2017. First report of a new citrus decline disease (CDD) in association with double and single infection by 'Candidatus *Liberibacter asiaticus*' and 'Candidatus *Phytoplasma aurantifolia*' related strains in Iran. *Plant Disease* 2145. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-17-0670-PDN>.
- Alwan S. L. and Mohamed S. A. 2021. Molecular diagnosis of *Alternaria* spp. causing citrus dieback in central Iraq. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology* 25(4): 10082-10093.
- Arzanlou M. Bakhshi M. Karimi K. and Torbati M. 2015. Multigene phylogeny reveals three new records of *Colletotrichum* spp. and several new host records for the mycobiota of Iran. *Journal of plant protection research* 55: 198-211.
- Azad C. S. Singh R. P. and Kumar A. 2016. Morpho-physiological studies and management strategies of *Alternaria tenuissima* (Kunze ex Pers.) Wiltshire causing dieback disease of Chilli. *Vegetos* 29: 4.
- Azadvar M. Alizadeh H. Najafinia M. Safarnejad M. and Esfandiari S. 2019a. Citrus sudden decline disease in the south of Kerman province. *Plant Pathology Science* 8(2): 31-37 (In Persian with English Summary).
- Azadvar M. Alizadeh H. Safarnejad M. R. Najafinia M. and Atellio Bianco P. 2019b. Etiology of quick decline disease of citrus on Bakraee (*Citrus* sp.) rootstock in southern Kerman. **Iranian Journal of Plant Protection Science** 50(1): 87-97 (In Persian with English Summary).

- Banihashemi Z. 1983. Detection and isolation of *Phytophthora* spp. in citrus soil and their distribution in citrus growing areas of southern Iran. Proceeding 7th Iranian Plant Protection Congress, Tehran, Iran. 97 (Abst.).
- Banihashemi Z. 2004. Method to monitor the activity of *Phytophthora* spp. in the root zone of *Pistacia* spp. *Phytopathologia Mediterranea* 43: 411-414.
- Ben Hadj Daoud H. Baraldi E. Iotti M. Leonardi P. and Boughalleb-M'Hamdi N. 2019. Characterization and pathogenicity of *Colletotrichum* spp. causing citrus anthracnose in Tunisia. *Phytopathologia Mediterranea* 58: 175-185.
- Benyahia H. Ifi Jr A. Smaili C. Afellah M. Lamsetef Y. and Timmer L. W. 2003. First report of *Colletotrichum gloeosporioides* causing withertip on twigs and tear stain on fruit of citrus in Morocco. *Plant Pathology* 52: 798.
- Billones-Baaijens R. and Savocchia S. 2019. A review of Botryosphaeriaceae species associated with grapevine trunk diseases in Australia and New Zealand. *Australasian Plant Pathology* 48: 3-18.
- Broadbent P. 2000. Dry root rot or sudden death. In: L. W. Timmer, S. M. Garnsey and J. H. Graham (Eds). *Compendium of citrus diseases*. St Paul (MN), APS Press.
- Brunetti A. Matere A. Lumia V. Pasciuta V. Fusco V. Sansone D. Marangi P. Cristella N. Faggioli F. Scortichini M. and Pilotti M. 2022. *Neofusicoccum mediterraneum* is involved in a twig and branch dieback of olive trees observed in Salento (Apulia, Italy). *Pathogens* 11(1): 53.
- Cannon P. F. Damm U. Johnston P. R. and Weir B. S. 2012. *Colletotrichum*-current status and future directions. *Studies in Mycology* 73: 181-213.
- Chakravarty P. and Mishra R. R. 1982. Studies in forest pathology root rot due to *Rhizoctonia solani* Kühn. *European Journal of Forest Pathology* 12(6): 308-316.
- Dandurand L. M. and Menge J. A. 1993. Influence of *Fusarium solani* on citrus root growth and population dynamics of *Phytophthora parasitica* and *Phytophthora citrophthora*. *Phytopathology* 83: 767-771.
- Dandurand L. M. and Menge J. A. 1994. Influence of *Fusarium solani* on chemotaxis of zoospores of *Phytophthora parasitica* and *Phytophthora citrophthora* and on distribution of ¹⁴C in citrus tissues and root exudates. *Soil Biodiversity and Biochemistry* 26(1): 75-79.
- Degani O. and Kalman B. 2021. Assessment of commercial fungicides against onion (*Allium cepa*) basal rot disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* and *Fusarium acutatum*. *Journal of Fungi* 7: 235.
- Deidda A. Buffa F. Linaldeddu B. D. Pinna C. Scanu B. Deiana V. Satta A. Franceschini A. and Floris I. 2016. Emerging pests and diseases threaten *Eucalyptus camaldulensis* plantations in Sardinia, Italy. *iForest-Biogeosciences and Forestry* 9: 883-891.
- Derrick K. S. and Timmer L. W. 2000. Citrus blight and other diseases of recalcitrant etiology. *Annual Review of Phytopathology* 38: 181-205.
- Desjardins A. E. Plattner R. D. and Nelson P. E. 1997. Production of fumonisin B1 and moniliformin by *Gibberella fujikuroi* from rice from various geographic areas. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 1838-1842.
- Ellis M. B. 1971. Dematiaceous hyphomycetes. CMI, Kew, 608 p.
- Ellis M. B. 1976. More dematiaceous hyphomycetes. CMI, Kew, 507 p.
- Erwin D. C. and Ribeiro O. K. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. The American Phytopathological Society Press, St Paul, MN, USA. 561 p.
- Espargham N. Mohammadi H. and Gramaje D. 2020. A survey of trunk disease pathogens within citrus trees in Iran. *Plants* 9: 754.
- Ezrari S. Radouane N. Tahiri A. El Housni Z. Mokrini F. Ozer G. Lazraq A. Belabess Z. Amiri S. and Lahlali R. 2022. Dry root rot disease, an emerging threat to citrus industry worldwide under climate change: A review. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 117: 101753.
- Faghihi M. M. Salehi M. Bagheri A. and Izadpanah K. 2009. First report of citrus huanglongbing disease on orange in Iran. *Plant Pathology* 58: 793.
- Fang J. G. and Tsao P. H. 1995. Efficacy of *Penicillium funiculosum* as a biological control agent against *Phytophthora* root rots of azalea and citrus. *Phytopathology* 85: 871-878.
- Fatemi J. 1972. Pythiaceae fungi associated with citrus decline in Iran. *Journal of Phytopathology* 74: 153-160.

- Goudarzi A. Bagheri A. Askari Seyahooei M. Amiri Mazraie M. and Modarres Najafabadi S. S. 2018. *Citrus × aurantiifolia*, a new host report of *Macrophomina phaseolina* in Iran. Australasian Plant Disease Notes 13: 15.
- Goudarzi A. Banihashemi Z. and Maftoun M. 2008. Effect of water potential on sclerotial germination and mycelia growth of *Macrophomina phaseolina*. Phytopathologia Mediterranea 47(2): 107-114.
- Goudarzi A. and Moslehi M. 2020. Distribution of a devastating fungal pathogen in mangrove forests of southern Iran. Crop Protection 128: 104987.
- Graham J. H. Johnson E. G. Gottwald T. R. and Irey M. S. 2013. Presymptomatic fibrous root decline in citrus trees caused by huanglongbing and potential interaction with *Phytophthora* spp. Plant Disease 97: 1195-1199.
- Graham J. H. Timmer L. W. and Dewdney M. M. 2011. Florida citrus pest management guide: Phytophthora foot rot and root rot. IFAS Extension, University of Florida.
- Guarnaccia V. Groenewald J. Polizzi G. and Crous P. 2017. High species diversity in Colletotrichum associated with citrus diseases in Europe. Persoonia 39: 32-50.
- Huang F. Chen G. Q. Hou X. Fu Y. S. Cai L. Hyde K. D. and Li H. Y. 2013. Colletotrichum species associated with cultivated citrus in China. Fungal Diversity 61: 61-74.
- Ippolito A. Decicco V. Cicco E. and Salerno M. 1990. Role of *Phytophthora* spp. in citrus decline in Apulia and Basilicata, Italy. Bulletin EPPO 20(1): 91-94.
- Ippolito A. Schena L. Nigro F. Ligorio V. S. and Yaseen T. 2004. Real-time detection of *Phytophthora nicotianae* and *P. citrophthora* in citrus roots and soil. European Journal of Plant Pathology 110: 833-843.
- Khamas A. D. AL-Mansour N. A. A. and Mohammad Ameen M. 2021. *Fusarium brachygibbosum* and *Fusarium acutatum* were first recorded as wilting agents on tomato plants in Basra. Annals of the Romanian Society for Cell Biology 25(4): 11356-11362.
- Khanchezar A. Izadpanah K. and Mirtalebi M. 2020. Biotic and abiotic factors associated with citrus progressive decline in Fars Province, Iran. Journal of Phytopathology 168(7-8): 460-468.
- Kotze J. M. 1982. Root rot of citrus. Citrus and Subtropical Fruit Journal 5: 583.
- Krueger R. R. and Bender G. S. 2015. Screening a core collection of citrus genetic resources for resistance to *Fusarium solani*. Acta Horticulturae 1065: 155-163.
- Kurt S. Uysal A. Mine Soylu E. Kara M. and Soylu S. 2020. Characterization and pathogenicity of *Fusarium solani* associated with dry root rot of citrus in the eastern Mediterranean region of Turkey. Journal of General Plant Pathology 86: 326-332.
- Leslie J. F. and Summerell B. A. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. blackwell publishing professional, Ames, USA, 388p.
- Logrieco A. Moretti A. Ritieni A. Bottalico A. and Corda P. 1995. Occurrence and toxigenicity of *Fusarium proliferatum* from preharvest maize ear rot, and associated mycotoxins, in Italy. Plant Disease 79: 727-731.
- Mahiout D. Bendahmane B. S. Youcef Benkada M. Mekouar H. Berrahal N. and Rickauer M. 2018. First report of Colletotrichum gloeosporioides on citrus in Algeria. Phytopathologia Mediterranea 57: 355-359.
- Mayorquin J. S. Nouri M. T. Peacock B. B. Trouillas F. P. Douhan G. W. Kallsen C. and Eskalen A. 2019. Identification, pathogenicity, and spore trapping of Colletotrichum karstii associated with twig and shoot dieback in California. Plant Disease 103: 1464-1473.
- Moges A. Belew D. Admassu B. Yesuf M. Maina S. and Ghimire S. 2017. Frequent association of Colletotrichum species with citrus fruit and leaf spot disease symptoms and their genetic diversity in Ethiopia. Journal of Plant Pathology and Microbiology 8: 10.
- Mohkami A. Satari R. Lori Z. Ehsani A. and Nazemi A. 2011. First report of citrus huanglongbing in the Orzooiyeh region in Kerman province. Iran. Journal of Plant Pathology 47: 29.
- Moller E. M. Bahnweg G. and Geiger H. H. 1992. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies, and infected plant tissues. Nucleic Acids Research 20: 6115-6116.
- Moral J. Agusti-Brisach C. Perez-Rodriguez M. Xavier C. Raya M. C. Rhouma A. and Trapero A. 2017. Identification of fungal species associated with branch dieback of olive and resistance of table cultivars to

- Neofusicoccum mediterraneum* and *Botryosphaeria dothidea*. Plant Disease 101: 306-316.
- Moral J. Munoz-Diez C. Gonzalez N. Trapero A. and Michailides T. J. 2010. Characterization and pathogenicity of Botryosphaeriaceae species collected from olive and other hosts in Spain and California. Phytopathology 100: 1340-1351.
- Mourichon X. 1994. Serious citrus dieback in Colombia caused by *Ceratocystis fimbriata*. Fruits (Paris) 49: 415-416.
- Muyolo N. G. Lipps S. E. and Schmithenner A. F. 1993. Reactions of dry bean, lima bean and soybean cultivars to *Rhizoctonia* root and hypocotyl rot and web blight. Plant Disease 77: 234-238.
- Nelson P. E. Toussoun T. A. and Marasas W. F. O. 1983. *Fusarium* species, an illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press, University Park, 193 p.
- Nemec S. Baker R. and Burnett H. 1980. Pathogenicity of *Fusarium solani* to citrus roots and its possible role in blight etiology. Proceedings of the Florida State Horticultural Society 93: 36-41.
- Nemec S. Jabaji-Hare S. and Charest P. M. 1991. ELISA and immunocytochemical detection of *Fusarium solani*-produced naphthazarin toxins in citrus trees in Florida. Phytopathology 81: 1497-1503.
- O'Donnell K. Cigelnik E. and Casper H. H. 1998. Molecular phylogenetic, morphological, and mycotoxin data support reidentification of the Quorn mycoprotein fungus as *Fusarium venenatum*. Fungal Genetics and Biology 23: 57-67.
- Passera A. Alizadeh H. Azadvar M. Quaglino F. Alizadeh A. Casati P. and Piero A. B. 2018. Studies of microbiota dynamics reveals association of "*Candidatus Liberibacter asiaticus*" infection with Citrus (*Citrus sinensis*) decline in South of Iran. International Journal of Molecular Sciences 19: 1817.
- Phillips A. J. L. Alves A. Abdollahzadeh J. Slippers B. Wingfield M. J. Groenewald J. Z. and Crous P. W. 2013. The Botryosphaeriaceae: Genera and species known from culture. Studies in Mycology 76: 51-167.
- Posada D. and Crandall K. A. 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. Bioinformatics 14: 817-818.
- Pramod S. Mesara S. Rao K. S. and Rajput K. S. 2022. Dieback of *Gmelina arborea* trees and structural alterations induced in the wood cell walls by *Alternaria alternata*. Forestist 72: 2-9.
- Ramos A. P. Talhinhos P. Sreenivasaprasad S. and Oliveira H. 2016. Characterization of *Colletotrichum gloeosporioides*, as the main causal agent of citrus anthracnose, and *C. karstii* as species preferentially associated with lemon twig dieback in Portugal. Phytoparasitica 44: 549-561.
- Rhaïem A. and Taylor P. W. J. 2016. *Colletotrichum gloeosporioides* associated with anthracnose symptoms on citrus, a new report for Tunisia. European Journal of Plant Pathology 146: 219-224.
- Riolo M. Aloï F. Pane A. Cara M. and Olga and Cacciola S. 2021. Twig and shoot dieback of citrus, a new disease caused by *Colletotrichum* species. Cells 10(2): 449.
- Romero M. A. Sanchez M. E. and Trapero A. 2007. First report of *Botryosphaeria ribis* as a branch dieback pathogen of olive trees in Spain. Plant Disease 89: 208.
- Ronquist F. and Huelsenbeck J. P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics 19: 1572-1574.
- Seifert K. Morgan-Jones G. Gams W. and Kendrick B. 2011. The genera of hyphomycetes. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre. 997 p.
- Simmons E. G. 2007. *Alternaria*: an identification manual. The American Phytopathological Society, 775 p.
- Sivanesan A. 1987. Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs. Mycological Papers 158: 1-261.
- Slippers B. Boissin E. Phillips A. J. Groenewald J. Z. Lombard L. Wingfield M. J. Postma A. Burgess T. Crous P. W. 2013. Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriales: A systematic and evolutionary framework. Studies in Mycology 76: 31-49.
- Sneh B. Burpee L. L. and Ogoshi A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. The American Phytopathological Society Press, St. Paul Minnesota, 133 p.
- Stamps D. J. Waterhouse G. M. Newhook F. J. and Hall G. S. 1990. Revised tubular key to the species of *Phytophthora*. Mycological Papers 162. CAB International, Mycological Institute, Wallingford, Oxon, UK.

- Standley K. 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* 30: 772-780.
- Taheri H. Javan-Nikkhah M. Elahinia S. A. Khodaparast S. A. and Golmohammadi M. 2016. Species of *Colletotrichum* associated with citrus trees in Iran. *Mycologia Iranica* 3(1): 1-14.
- Tsahouridou P. C. and Thanassoulopoulos C. C. 2000. First report of *Alternaria alternata* as a dieback pathogen of kiwifruit. *Plant Disease* 84: 371.
- Urbez-Torres J. R. Peduto F. Vossen P. M. Krueger W. H. and Gubler W. D. 2013. Olive twig and branch dieback: Etiology, incidence, and distribution in California. *Plant Disease* 97: 231-244.
- Uwaremwe C. Yue L. Liu Y. Tian Y. Zhao X. Wang Y. Xie Z. Zhang Y. Cui Z. and Wang R. 2020. Molecular identification and pathogenicity of *Fusarium* and *Alternaria* species associated with root rot disease of wolfberry in Gansu and Ningxia provinces, China. *Plant Pathology* 7(2): 1-10.
- Uysal A. and Kurt S. 2019. First report of *Colletotrichum karstii* causing anthracnose on citrus in the Mediterranean region of Turkey. *Journal of Plant Pathology* 101: 753.
- Weir B. S. Johnston P. R. and Damm U. 2012. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. *Studies in Mycology* 73: 115-180.
- White T. J. Bruns T. D. Lee S. B. and Taylor J. W. 1990. Amplification and sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. pp. 315-322. In: N. Innis. D. Gelfand. J. Sninsky and T. C. White (Eds). *PCR-protocols and applications-A laboratory manual*. New York, Academic Press.
- Woodhall J. W. Brown L. Harrington M. Murdock M. Pizolotto C. A. Wharton P. S. and Duellman, K. 2022. Anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia* associated with potatoes in Idaho. *Plant Disease* 106(12): 3127-3132.
- Woudenberg J. H. C. Groenewald J. Z. Binder M. and Crous P. W. 2013. *Alternaria* redefined. *Studies in Mycology* 75(1): 171-212.
- Wu J. Johnson E. G. Bright D. B. Gerberich K. M. and Graham J. H. 2017. Interaction between *Phytophthora nicotianae* and *Candidatus Liberibacter asiaticus* damage to citrus fibrous roots. *Journal of Citrus Pathology* 4(1): 1-7.