گیاهپزشکی (مجله علمی کشاورزی)، جلد ۳۸ شماره ۱، بهار ۹۴

شناسایی عامل لکه برگی و پوسیدگی نرم باکتریایی گیاهان زینتی در استان اصفهان

راضیه یزدانی[۱]، مسعود شمس بخش[۲*] و ناصر صفایی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

۲*-**نویسنده مسوول:** دانشیار بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.(shamsbakhsh@modares.ac.ir)

۳- دانشیار بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

تاریخ دریافت: ۹۲/۰۶/۰۹ تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۶/۰۹

چکیده

لکه برگی و پوسیدگی نرم باکتریایی یکی از بیماری‌های مهم اقتصادی است که ریشه، غده، برگ و ساقه تعدادی از گیاهان زینتی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. این بیماری توسط طیف وسیعی از باکتری های پکتولیتیک ایجاد می‌شود. به منظور شناسایی عوامل لکه برگی باکتریایی گیاهان زینتی در استان اصفهان، تعداد ۷۰ نمونه از برخی گیاهان زینتی با علائم لکه برگی و پوسیدگی نرم از گلخانه‌های مختلف استان جمع آوری شد. پس از جداسازی باکتری‌ها، بیماری‌زایی جدایه‌ها با مایه‌زنی روی گیاهان میزبان اثبات شد. شناسایی باکتری‌ها با انجام آزمون‌های متداول فنوتیپی و آنالیز ترادف ۱۶SrDNA انجام شد. نتایج این آزمون‌ها نشان داد جدایه‌های بررسی شده متعلق به گونه *Pectobacterium carotovorum* بودند. این اولین گزارش از شناسایی این باکتری از گیاهان زینتی در استان اصفهان می‌باشد.

***کلید واژه‌ها:* گونه *Pectobacterium carotovorum*، *16S rDNA*، تعیین ترادف**

مقدمه

جنس پکتوباکتریوم یکی از مهمترین بیمارگرهای گیاهی گرم منفی متعلق به خانواده Enterobacteriaceae است. این جنس طیف وسیعی از علائم بیماری شامل پوسیدگی نرم، پژمردگی، را در دامنه وسیعی از گیاهان میزبان تک لپه‌ای و دو لپه‌ای و ساق سیاه را در سیب زمینی ایجاد می‌کند (مارکز-ویلاویسنسیو و همکاران[۱]، ۲۰۱۱). از ویژگی‌های اصلی این باکتری‌ها، تولید و ترشح آنزیم‌های منهدم کننده دیواره سلولی، به ویژه آنزیم‌های پکتیناز یا پکتولیتیک است که موجب لهانیده شدن بافت‌های گیاهی می‌گردند (باراس و همکاران[۲]، ۱۹۹۴). جنس پکتوباکتریوم براساس اختلاف دامنه میزبانی و ویژگی‌های بیوشیمیایی و مولکولی به چندین گونه و زیرگونه تقسیم می‌شود (کوان و همکاران[۳]، ۱۹۹۷). این جنس به پنج گونه *Pectobacterium carotovorum, P. atrosepticum, P. betavasculorum, P. brasiliensis* و *P. wasabiae* (ون در مرو و همکاران[۴]، ۲۰۱۰) تقسیم می‌شوند و برای گونه *P. carotovorum* نیز سه زیرگونه *P. carotovoum*, subsp. *Carotorum*، *P. carotovorum* subsp. Odoriferum (Pcc) و *P. carotovorum* subsp. brasiliensis توصیف

1- Marquez-Villavicencio *et al.*

2- Barras *et al.*

3- Kwon *et al.*

4- Van der Merwe *et al.*

شده است (گاردان و همکاران[1]، ۲۰۰۳، دوارت و همکاران[2]، ۲۰۰۴). گونه‌ی *P. atrosepticum* و *Pcc* مهم‌ترین گونه و زیر گونه این جنس هستند که باعث خسارت شدید به محصولات زیادی در مزرعه و در طول انبارداری می‌شوند. در میان این‌ها *Pcc* دارای دامنه میزبانی و جغرافیایی وسیعتری است (ژئو و همکاران[3]، ۲۰۱۰).

در ایران اولین بار باکتری (*Pectobacterium*) *Erwinia* از پیازهای پوسیده سیکلامن جدا شد (حجارود، ۱۳۴۶). امانی با آزمایش‌های بیشتر گونه باکتری را (*Pectobacterium*) *Erwinia carotovora* معرفی نمود (امانی، ۱۳۴۶). از آن هنگام تاکنون، مطالعات متعددی جهت شناسایی این باکتری‌ها در مناطق مختلف کشور و بیشتر روی سیب زمینی صورت گرفته است (بهار و دانش، ۱۳۶۵؛ ظهورپرالک و همکاران، ۱۳۷۷؛ احمدوند و رحیمیان، ۱۳۸۱؛ سهیلی مقدم و حسن زاده، ۱۳۸۳ ؛ بقایی راوری و همکاران، ۲۰۱۱).

یکی از بخش‌های در حال رشد باغبانی در جهان و ایران، تولید گیاهان زینتی است. بسیاری از این گیاهان منشآ استوایی دارند، بنابراین شرایط محیط‌های گلخانه‌ای آن‌ها با زیستگاه بومی این گیاهان متفاوت است، در نتیجه گیاهان تحت تنش قرار می‌گیرند و مستعد آلودگی به انواع عوامل بیماری‌زا می‌شوند (چاز[4]، ۱۹۸۷). باکتری‌های پکتولیتیک یکی از عوامل مهم خسارت‌زا در گیاهان زینتی به حساب می‌آیند. وقوع انتروباکتریاهای پکتولیتیک عامل پوسیدگی نرم و لکه برگی گیاهان زینتی در بسیاری از کشورهای جهان (بویراز و همکاران[5]،۲۰۰۶؛ کیم و کیم[6]، ۲۰۰۷؛ آلیپی و لوپز[7]، ۲۰۰۹) و از جمله گلخانه‌های شمال ایران (بقایی راوری و همکاران، ۲۰۱۱)، استان‌های تهران و مرکزی (دهاقین و شمس بخش، ۲۰۱۴) گزارش شده است.

هدف از انجام این پژوهش شناسایی گونه‌های پکتوباکتریوم عامل پوسیدگی نرم و لکه برگی در استان اصفهان با استفاده از روش‌های مولکولی و بیوشیمیایی است. یافته‌های ما نشان داد که باکتری *P. carotovorum* یکی از عوامل اصلی پوسیدگی نرم و لکه برگی درگیاهان زینتی این استان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

در آبان ماه ۱۳۹۰ از گلخانه‌های گل زینتی در استان اصفهان نمونه‌های دارای علائم مشکوک از برگ، ساقه و گل گیاهان زینتی آگلونما (*Aglonema robelini*)، پتوس (*Scindapsus* spp)، سینگونیوم (*Syngonium podophllum*)، کاکتوس (*Schumbergera* spp)، آلوئورا (*Aloe vera*)، دیفن باخیا (*Diffenbachia amoena*)، اسپاتیفیلوم (*Spathiphyllum wallisii*)، گل ناز (*Portulaca grandiflora*)، رز (*Rosa hybrid*) و دراسنا (*Dracaena sp.*) جمع آوری شد از باکتری‌های *Pcc* (IBSBF-863 = ATCC15713) و *P. atrosepticum* (IBSBF-1819 = ATCC33260) به عنوان جدایه‌های استاندارد از کلکسیون نگهداری باکتری IBSBF[8] در برزیل استفاده شد.

جداسازی و خالص‌سازی

برای جداسازی باکتری‌های نمونه‌های بیمار، اندام‌های آلوده پس از شستشو با آب معمولی و ضد عفونی با هیپوکلرید سدیم یک درصد، خشک و قطعات کوچکی از نواحی حد فاصل بافت سالم و بیمار در تشتک‌های پتری استریل حاوی آب مقطر استریل قرار

1 - Gardan *et al.*
2- Duarte et al.
3- Zhu *et al.*
4- Chase
5- Boyraz *et al.*
6- Kim & Kim
7- Alippi & Lopez
8- Instituto Biológico Seção de Bacteriologia Fitopatologia

داده و با اسکالپل خرد شدند. پس از ۲۰ دقیقه، یک قطره از سوسپانسیون حاصله روی محیط آگار غذایی (NA) مخطط گردید و درانکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس کلنی‌های منفرد مجددا در محیط آگار غذایی خالص سازی شدند. همه‌ی جدایه‌ها در آب مقطر استریل در یخچال و در گلیسرول ۳۰ درصد در دمای ۸۰- نگهداری شدند.

آزمون‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی

به منظور شناسایی و جدا نمودن باکتری‌های متعلق به اروینیاهای پکتولیتیک از دیگر باکتری‌ها، آزمون‌های لازم شامل رنگ آمیزی گرم، لهانیدن ورقه‌های سیب زمینی، لوان، هیدرولیز اسکولین، رشد در دمای ۳۹ و ۴۱ درجه سلسیوس، تولید ایندول، تحمل نمک طعام ۲، ۳ و ۵ درصد، تولید H_2S از سیستئین، احیاء مواد از سوکروز و اوره‌آز به روش شاد و همکاران[1] (۲۰۰۱) انجام گرفت. آزمون اکسیداز با قرار دادن توده‌ای از کلنی روی کاغذ آغشته به محلول یک درصد ترامتیل دی آمین دی هیدروکلراید صورت گرفت (شاد و همکاران، ۲۰۰۱). آزمون کاتالاز، هیدرولیز ژلاتین، هیدرولیز نشاسته و آرژنین دی‌هیدرولاز صورت گرفت. آزمون احیای نیترات و با افزودن معرف‌های سولفانیلیک اسید و آلفا نفتیل آمین در اسید استیک انجام شد. تشکیل هاله در محیط کشت پلی گالاکتورونیک اسید نیز برای تایید لهانیدن ورقه های سیب زمینی انجام گرفت (دلگادو-جارانا و همکاران[2]، ۲۰۰۵). آزمون استفاده از منابع مختلف کربوهیدراتی شامل سوکروز، گلوکز، سلوبیوز، ، مالتوز، رافینوز، ، لاکتوز، دی‌تارتارات، سوربیتول و دی آرابیتول و سیترات به عنوان تنها منبع کربن و انرژی به روش شاد و همکاران (۲۰۰۱) و با استفاده از محیط کشت آیر و همکاران انجام گرفت. آزمون رشد در شرایط هوازی و بی‌هوازی به روش هیو و لایفسون[3] (۱۹۵۳) انجام گرفت.

1- Schaad *et al.*
2- Delgado-Jarana *et al.*
3- Hugh & Leifson

آزمون اثبات بیماری‌زایی

به این منظور از گیاهان میزبان (آگلونما، سینگونیوم، رز و آگاو(*Agave* sp.)) استفاده شد. از کشت ۲۴ ساعت باکتری سوسپانسیونی با غلظت ۱×۱۰^{۷} سلول در میلی لیتر تهیه شد و به روش تزریق در فاصله بین رگبرگ عمل مایه-زنی صورت گرفت. به منظور حفظ رطوبت مناسب، ۴۸ ساعت قبل و بعد از مایه‌زنی روی کلیه گیاهان با استفاده از پوشش پلاستیکی سلوفان پوشانده شد. از آب مقطر استریل به عنوان کنترل استفاده شد. علائم بعد از ۱۲ تا ۱۵ روز مشاهده شد. سپس از گیاهان دارای علائم نمونه‌هایی به صورت تصادفی انتخاب شد و پس از ضدعفونی و شست و شو، عمل جداسازی و هم‌چنین تکرار تعدادی از آزمون‌های بیوشیمیایی به منظور اطمینان از بیماری‌زایی باکتری مورد نظر انجام شد. برای انجام آزمون فوق حساسیت از گیاهان توتون (*Nicotiana tabacum* cv. anthi) و شمعدانی(*Pelargonium hortorum*) استفاده شد. به این منظور از کشت ۲۴ ساعت باکتری سوسپانسیونی با غلظت ۲×۱۰^{۸} تهیه و به برگ‌ها در فضای بین سلولی تزریق شد و نتایج بعد از ۲۴ تا ۴۸ ساعت ثبت شد (کلمنت و همکاران[4]، ۱۹۶۴).

استخراج دی ان ای

استخراج دی ان ای با استفاده از روش لیز قلیایی صورت گرفت. پس از گذشت ۲۴ ساعت از کشت باکتری در محیط آگار غذایی، سوسپانسیونی از باکتری در داخل میکروتیوب‌های یک و نیم میلی لیتری تهیه شد. سپس به هر یک از تیوب‌ها ۵۰ میکرولیتر محلول KOH پنج در صد اضافه شد و بعد از ورتکس کردن به مدت ۱۰ دقیقه جوشانده شدند. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰rpm سانتریفیوژ شدند و محلول‌رویی حاوی دی ان ای به طور مستقیم در واکنش پی سی آر به کار برده شد.

4- kelment

پی سی آر، تعیین ترادف وآنالیز فیلوژنتیکی

قطعه ۱۶S rDNAبرای هر جدایه با استفاده از آغازگرهای 16f27:5'- AGAGTTTGATGAT CMTGGCTCAG-3' و 16R1525: 5'- TTCTGCAGTCTAGAAGGAGGTGW TCCAGCC-3' تکثیر شد. شرایط پی سی آر توسط پوزا و همکاران[1] (۲۰۰۸) توصیف شده است. تفکیک دی ان ای تکثیر شده در ژل آگارز یک درصد رنگ آمیزی شده با اتیدیوم برماید انجام شد. ژل با استفاده از دستگاه ویبر لورمنت[2] (فرانسه) عکسبرداری شد. محصول پی سی آر به وسیله کیت استخراج دی ان ای سیناژن[3] از ژل استخراج شد. سپس قطعه تکثیر شده برای تعیین ترادف به شرکت بیونیر[4] کره جنوبی ارسال گردید. ترادف‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار کلاستال ایکس[5] ویرایش شد و با ترادف‌های مشابه در سایت NCBI[6]همردیف و با استفاده از نرم افزار مگافایو[7] مقایسه و درخت فیلوژنتیکی با سه روش کمترین فرضیات[8] ، بیشینه درست نمایی[9] و اتصال همسایه[10] رسم شد و میزان اطمینان به الگوی شاخه‌ها با ۱۰۰۰ بار فراوانی ارزیابی شد. توالی منتشر شده جدایه(L18927) *Buchnera aphidicola* به عنوان گروه خارجی استفاده شد.

نتایج

شناسایی پکتوباکتریوم در گیاهان زینتی

در مجموع از ۷۰ نمونه گیاهی مشکوک به آلودگی از گیاهان زینتی نمونه‌های دارای علائم لهیدگی، لکه‌های آبسوخته به رنگ زرد مایل به قهوه‌ای دارای حلقه‌های متحدالمرکز تیره و روشن و بعضی اوقات همراه با هاله زرد رنگ، ۶۴ استرین جداسازی و خالص سازی شد از این میان ۱۵ جدایه بر اساس آزمون‌های بیوشیمیایی *P. carotovorum* تشخیص داده شدند. برای ادامه کار سه جدایه بر اساس شدیدترین علائم بیماری زایی و گونه میزبان به عنوان نماینده انتخاب شدند (جدول ۱).

آزمون بیماری‌زایی

علائم بیماری تقریبا ۱۰-۷ روز بعد از تزریق در فاصله بین رگبرگ‌ها ظاهر شد. علائم پوسیدگی نرم و لکه برگی روی آگلونما، لکه برگی و بلایت روی آگاو و سینگونیوم بودند. که بعد از مدتی (حدود ۱۴ روز) گسترش پیدا کردند و بخش وسیعی از سطح مایه زنی شده زرد و سپس نکروز شد و هاله زرد رنگ اطراف لکه نکروز را احاطه کرد. در گیاهانی که با آب مقطر استریل تزریق شدند، هیچ گونه علائمی مشاهده نشد (شکل ۱). جدایه‌هایی که بیماری‌زایی آن‌ها مثبت بود جدا و ویژگی‌های بیوشیمیایی آن‌ها بررسی شد. همچنین در بازیابی دوباره باکتری، پس از جداسازی و کشت در محیط آگار غذایی، باکتری مورد نظر دوباره به دست آمد و آزمون‌های بیوشیمیایی لازم برای شناسایی مجدد آن‌ها این موضوع را اثبات کرد. آزمون فوق حساسیت روی گیاه شمعدانی و توتون نیز برای هر سه جدایه مثبت بود (شکل ۱).

آنالیز فیلوژنتیکی توالی ۱۶S rDNA

نتایج حاصل از تعیین ترادف ناحیه 16S rDAN جدایه E3YM با طول ۹۰۷ جفت باز نشان داد که این جدایه با سایر جدایه‌های *P. carotovorum* در پایگاه اطلاعات داده حدود ۹۹٪ همسانی داشت. درختان فیلوژنتیک که با هر سه روش ذکر شده در مواد و روش انجام شد نشان داد که جدایه E3YM با جدایه های *P. carotovorum* در یک گروه قرار گرفت (شکل۲).

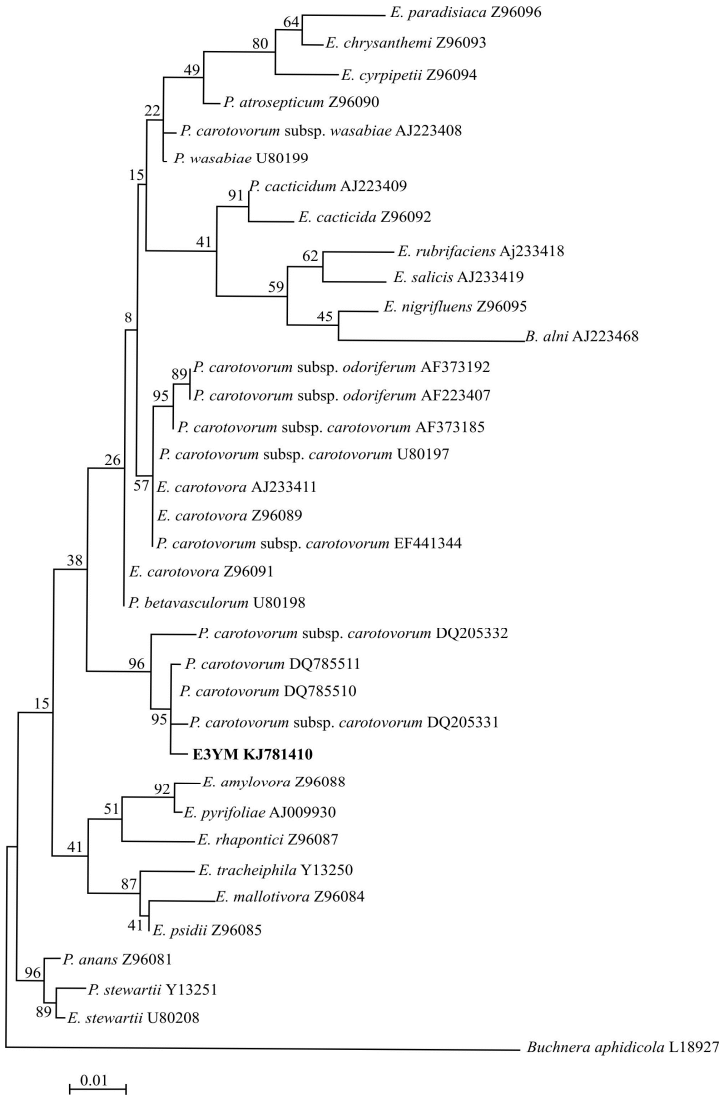
1- Poza *et al.*
2- Viber Lourmant
3-Cinnagen
4- Bioneer
5- Clustal x
6- National Center for Biotechnology Informational
7- MEGA5
8- Maximum parsimony
9- Maximum likelihood
10- Neighbour-joining

جدول ۱- مقایسه خصوصیات فنوتیپی جدایه‌های بدست آمده از گیاهان زینتی استان اصفهان با جدایه استاندارد *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (ATCC15713)

آزمون	واکنش			
	E3YM	E52W	E15W	جدایه استاندارد
گرم	*-	-	-	-
رنگ در محیط NA	کرم	سفید	کرم	کرم
بیماری زایی	+**	+	+	+
میزبان	دراسنا	پتوس	آگلونما	
واکنش فوق حساسیت	+	+	+	+
تولید رنگ فلورسنت در KB	-	-	-	-
اکسیداز	-	-	-	-
پلی گالاکتورونیک اسید	+	+	+	+
لهانیدن سیب زمینی	+	+	+	+
تولید لوان	-	-	-	-
رنگ زرد درYDC	-	-	-	-
آرژنین دهیدرولاز	-	-	-	-
رنگ سبز متالیک درEMB	+	+	+	+
O/F	***F	F	F	F
هیدرولیز اسکولین	+	+	+	+
رشد در دمای۳۷ C	+	+	+	+
رشد در دمای۴۱ C	-	-	-	-
تحمل نمک ۲و۳ درصد	+	+	+	+
تحمل نمک ۵درصد	+	+	+	+
احیای نیترات	+	+	+	+
تولید ایندول	-	-	-	-
هیدرولیزنشاسته	-	-	-	-
تولید H2S از سیستئین	+	+	+	+
متیل رد	-	-	+	+
احیای مواد از سکروز	-	-	-	-
اوره آز	-	-	-	-
کاتالاز	+	+	+	+
استفاده از:سکروز	+	+	+	+
گلوکز	+	+	+	+
سلوبیوز	+	+	+	+
مالتوز	-	-	-	-
رافینوز	+	+	+	+
لاکتوز	+	+	+	+
دی تارتیت	-	-	-	-
سوربیتول	-	-	-	-
دی آرابیتول	-	-	-	-
سیترات	+	+	+	+

* (-):منفی ** (+):مثبت *** F:بی هوازی اختیاری

شکل ۱- علائم بیماری‌زایی روی گیاهان زینتی شامل آگلونما (*Aglaonema treubii*) (آ.ب.ت)، سینگونیوم (*Syngonium podophyllum* (د)، آگاو (*Agave sp.*) (ذ)، و واکنش فوق حساسیت روی شمعدانی (*Pelargonium hortorum* (ه).



شکل ۲- درخت فیلوژنتیکی حاصل از مقایسه جدایه E3YM و برخی از گونه‌های بیماری‌زای گیاهی خانواده Enterobacteriaceae در NCBI بر اساس ناحیه 16S rDNA با استفاده از روش بیشینه درست نمایی

بحث

در پژوهش حاضر جدایه‌های باکتری از گیاهان زینتی کشت شده در گلخانه‌های استان اصفهان جداسازی شد. در نتیجه سه جدایه E52W، E3YM و E15W که به ترتیب از برگ پتوس، دراسنا و آگلونما به دست آمد بر اساس آزمون‌های فنوتیپی و بیماری‌زایی متعلق به گونه‌ی *P. carotovorum* تشخیص داده شدند. تعیین ترادف ناحیه ۱۶S rDNA جدایه E3YM که به عنوان جدایه نماینده انتخاب شد بیش‌ترین شباهت در سطح ۹۹ درصد با *P. carotovorum* داشت.

گونه‌ی *P. carotovorum* به عنوان عامل بیماریزا از خانواده‌های گیاهی کلمیان، سولاناسه[1]، چتریان، سوسنیان، کوکوربیتاسه[2] (توت و همکاران[3]، ۲۰۰۳) و آراسه[4] (هو و همکاران[5]، ۲۰۰۸) گزارش شده است. این باکتری از گیاهان زینتی زیادی از جمله آگلونما (چائو و همکاران، ۲۰۰۶)، اسپاتی فیلوم (آلیپی و لوپز، ۲۰۰۹)، برملیا، کردلین، سینگونیوم، آلوئه، سرئوس، گونه‌های مختلف کاکتوس، سدوم (چاز، ۱۹۹۷)، لاله (بویراز و همکاران، ۲۰۰۶) و یوفوربیا (سوسلو و مک کین[6]، ۱۹۷۹) از مناطق مختلف دنیا جداسازی وگزارش شده است. بعلاوه *P. carotovorum* از گیاهان زینتی تک لپه و دولپه متعددی از مناطق مختلف ایران جداسازی و گزارش شده است (بقایی راوری و همکاران، ۲۰۱۱، دهاقین و شمس بخش، ۲۰۱۴). ویژگی‌های بیوشمیایی جدایه‌های بررسی شده در این مطالعه مشابه گونه‌های تیپ توصیف شده توسط شاد و همکاران در ۲۰۰۱ بود. این ویژگی‌ها تعلق این جدایه‌ها را به *P. carotovorum* و همچنین دامنه میزبانی و پراکنش جغرافیایی وسیع این باکتری را تایید می‌کند. گیاهان زینتی مستعد بیماری‌زایی توسط *P. carotovorum* هستند، زیرا از ویژگی‌های اصلی باکتری های *Pectobacterium*، تولید و ترشح آنزیم‌های منهدم کننده دیواره سلولی، به ویژه آنزیم های پکتیناز یا پکتولیتیک است که موجب لهانیده شدن بافت‌های گیاهی می‌گردند (باراس و همکاران، ۱۹۹۴). پوسیدگی های نرم باکتریایی بیشتر روی گیاهانی که بافت‌های ذخیره‌ای یا برگ و ساقه‌های نرم و آبدار دارند (از جمله گیاهان آپارتمانی آگلونما، پتوس و دراسنا) رخ می‌دهد. اقداماتی از جمله پاشیدن آب روی سطح گیاهان، تراکم بیش از حد گیاهان در گلخانه گردش هوا را اطراف گیاهان کم می‌کند و همچنین باعث ایجاد زخم‌های کوچک روی سطح برگ می‌شود و شرایط مساعدی برای ایجاد بیماری فراهم می‌کند.

با توجه به نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی، دامنه میزبانی و آنالیز ترادف ۱۶S rDNA جدایه E3YM به نظر می رسد این جدایه شباهت بیشتری به زیر گونه *Pcc* دارند. هر چند برای اثبات این فرضیه نیاز به بررسی‌های بیشتر از جمله تعیین ترادف چند ژن خانه‌داری و انجام آنالیزهای فیلوژنتیکی بر اساس ترادف آنها برای تعیین زیر گونه ضروری است. همچنین لازم است که مطالعه گسترده-تری روی پکتوباکتریوم‌های مولد پوسیدگی نرم و لکه برگی روی میزبان‌های بیشتری از گیاهان زینتی در مناطق مهم تولید گل در ایران به منظور شناسایی دقیق‌تر و دستیابی به راه‌های کنترل بهتر این بیمارگر انجام پذیرد. با توجه به شناسایی این باکتری در گیاهان زینتی استان اصفهان لازم است پرورش دهنده‌های گل تمهیدات لازم برای جلوگیری از خسارت این باکتری را در برنامه کار تولید خود پیش بینی کنند.

سپاس‌گزاری

از حمایت مالی دانشگاه تربیت مدرس برای انجام این پژوهش قدردانی می شود.

1- Solanaceae
2- Cucurbitaceae
3- Toth *et al.*
4- Araceae
5- Hu *et al*
6- Suslow & McCain

منابع

۱. امانی، ب. ۱۳۴۶. گندیدگی نباتات زینتی و سبزیجات. مجله بیماری‌های گیاهی. جلد ۴، ص ۱۳.

۲. احمدوند، ر. و رحیمیان، ح. ۱۳۸۱. بررسی تنوع‌های پکتولیتیک بیماریزا روی سیب زمینی در *Erwinia* استان همدان. خلاصه مقالات پانزدهمین کنگره گیاه. پزشکی ایران، ص ۱۸۷.

۳. بهار، م. و دانش، د. ۱۳۶۵. بروز بیماری ساق سیاه سیب زمینی در اصفهان. خلاصه مقالات هشتمین کنگره گیاه پزشکی ایران، ص ۱۰۳.

۴. حجارود، ق.ع. ۱۳۴۶. پوسیدگی نرم غده سیکلامن در ایران. مجله بیماری‌های گیاهی. جلد ۴، ص ۲.

۵. سهیلی مقدم، ب. و حسن زاده، ن. ۱۳۸۳. شناسایی اروینیاهای مولد بیماری پوسیدگی نرم سیب زمینی در استان اردبیل. خلاصه مقالات شانزدهمین کنگره گیاه پزشکی ایران، ص ۲۲۷.

۶. ظهورپرالک، ا.، رحیمیان، ح. و بنی هاشمی، ض. ۱۳۷۷. شناسایی *Erwinia* های مولد پوسیدگی نرم سیب زمینی در استان فارس. خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاه پزشکی ایران، ص۱۷۱.

7. Alippi, A.M., and Lopez, A.C. 2009. First Report of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* on *Spathiphyllum wallisii* in Argentina. Plant Disease, 93: 842-843.

8. Baghaee-Ravari, S., Rahimian, H., Shams-Bakhsh, M., Lopez-Solanilla, E., Antúnez-Lamas, M., and Rodríguez-Palenzuela, P. 2011. Characterization of *Pectobacterium* species from Iran using biochemical and molecular methods. European Journal of Plant Pathology, 129: 413-425.

9. Barras, F., Van Gijsegem, F., and. Chatterjee, A.K. 1994. Extracellular enzymes and pathogenesis of soft-rot *Erwinia*. Annual Review of Phytopathology, 32: 201-34.

10. Boyraz, N., Bastas, K.K., Maden, S., and Yasar, A. 2006. Bacterial leaf and peduncle soft rot caused by *Pectobacterium carotovorum* on Tulips in Konya, Turkey. Phytoparasitica, 34: 272-280.

11. Chao, Y.C., Feng, C.T., and Ho, W.C. 2006. First report of Aglaonema bacterial blight caused by *Erwinia chrysanthemi* in Taiwan. Plant Disease, 90: 1358.

12. Chase, A.R. 1997. Foliage plant diseases: Diagnosis and control, American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota, USA. 218.

13. Chase, A.R. 1987. Leaf and petiole rot of *Ficus lyrata* cv.compacta caused by *Pseudomonas cichorii*. Plant Pathology, 36: 219-221.

14. Dahaghin, L. and Shams-bakhsh, M. 2014. Identification and genetic diversity of pectolytic phytopathogenic bacteria of mono- and dicotyledonous ornamental plants in Iran. Journal of Plant Pathology. 96: 271-279.

15. Delgado-Jarana, J., Martinez-Rocha, A.L., Roldan-Rodriguez, R., Roncero, M.I., and Di Pietro, A. 2005. *Fusarium oxysporum* G-protein beta subunit Fgb1 regulates hyphal growth, development, and virulence through multiple signalling pathways. Fungal Genetics and Biology, 42:61-72.

16. Duarte, V., De Boer, S.H., Ward, L.J., and de Oliveira, A.M.R. 2004. Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. Journal of Applied Microbiology, 96: 535-545.

17. Gardan, L., Gouy, C., Christen, R., and Samson, R. 2003. Elevation of three subsp. of *Pectobacterium carotovorum* to species level: *Pectobacterium atrosepticum* sp. nov., *Pectobacterium betavasculorum* sp. nov. and *Pectobacterium wasabiae* sp. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 53: 381-391.

18. Hu, X.F., Ying, F.X., Gao, Y.Y., Chen, H.M., and Chen, J.S. 2008. Characterization of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* causing soft-rot disease on Pinellia ternate in China. European Journal of Plant Pathology, 120: 305-310

19. Hugh, R., and Leifson, E. 1953. The taxonomic significance of fermentatative versus oxidative metaboloism of carbohydrates by various gram negative bacteria. Journal of Bacteriology, 66: 24-26.

20. Kim, S.G., and Kim, Y.H. 2007. First report on bacterial soft rot of graft-cactus *Chamaecereus silvestrii* caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* in Korea. Plant Pathology, 23: 314-317.

21. Klement, Z., Farkas, G. and Lovrekovich, L. 1964. Hypersensitive reaction induced by phytopathogenic bacteria in the tobacco leaf. Phytopathology, 54: 474-477.

22. Kwon, S.W., Go, S.J., Kang, H.W., Ryu, J.C., and Jo, J.K. 1997. Phylogenetic analysis of Erwinia species based on 16S rRNA gene sequences. International Journal of Systematic Bacteriology, 47: 1061-1067.

23. Marquez-Villavicencio, M.D.P., Groves, R.L., and Charkowski, A.O. 2011. Soft rot disease severity is affected by potato physiology and *Pectobacterium* taxa. Plant Disease, 95: 232-241.

24. Poza-Carrion, C., Aguilar, I., Gallego, F., Nunez-Moreno, Y., Biosca, E., Gonzalez, R., Lopez, M., and Rodrguez-palenzuela, P. 2008. *Brenneria quercina* and *Serratia spp*. Isolated from Spanish oak trees: molecular characterization and development of PCR primers. Plant Pathology, 57(2): 308-319.

25. Schaad, N.W., Jones, J.B., and Chun, W. 2001. Laboratory guid for identification of plant pathogenic bacteria. American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota, USA.

26. Suslow, T., and McCain, A.H. 1979. Etiology, host range and control of a soft rot bacterium from cactus. Phytopathology, 69: 921 (Abstract).

27. Toth, I.K., Bell, K. S., Holeva, M.C., and Birch, P.R.J. 2003. Soft rot Erwiniae: From genes to genomes. Molecular Plant Pathology, 4:17-30.

28. Van der Merwe, J.J., Coutinho, T.A., Korsten, L., and Van der Waals, E. 2010. *Pectobacterium carotovorum* subsp. brasiliensis causing blackleg on potatoes in South Africa. European Journal of Plant Pathology, 126: 175-185.

29. Zhu, L., Xie, H., Chen, S., and Ma, R. 2010. Rapid Isolation, identification and phylogenetic analysis of *Pectobacerium carotovorum*. Journal of Plant Pathology, 92 (2): 479-483.