



وزارت جهاد کشاورزي
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزي
مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور

نشریه فنی

اصول شناسایی، ردیابی و مدیریت
عامل بیماری آنتراکنوز توتفرنگی
Colletotrichum acutatum species complex

نگارندگان:
کسری شریفی، سامان بهرامی کمانگر، مونس بخشی
و علیرضا جوادی
شماره ثبت:
۶۱۵۶۳
۱۴۰۱

وزارت جهاد کشاورزي
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزي
مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور

اصول شناسایی، ردیابی و مدیریت
عامل بیماری آنتراکنوز توتفرنگی
Colletotrichum acutatum species complex

نگارندگان:

کسری شریفی، سامان بهرامی کمانگر، مونس بخشی
و علیرضا جوادی
اعضای هیئت علمی مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی
کشور

۱۴۰۱

مخاطبان نشریه فنی: ناظرین، مروجین و کارشناسان
کشاورزی

مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، نشریه فنی
اصول شناسایی، ردیابی و مدیریت عامل بیماری
آنتراکنوز توت‌فرنگی *Colletotrichum acutatum* species complex

نگارندگان: کسری شریفی، سامان بهرامی

کمانگر، مونس بخشی و علیرضا جوادی

ناشر: مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور

سال نشر: ۱۴۰۱

شماره و تاریخ ثبت نشریه: ۶۱۵۶۳ مورخ:

۱۴۰۱/۰۲/۲۸

نشانی مرکز اطلاعات و مدارک علمی کشاورزی:

تهران، بزرگراه شهید چمران، خیابان یمن، پلاک ۱،

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

فهرست مندرجات

پیشگفتار	۱
مقدمه	۲
بیماری آنتراکنوز توتفرنگی	۵
معرفی عوامل بیماری	۷
شناسایی و ردیابی عوامل بیماری براساس	
ریختشناسی	۸
شناسایی گونه مرکب	Error! Bookmark not defined.
ردیابی	
مولکولی	
	۱۲
مدیریت بیماری	۱۶
فهرست منابع	۱۸

پیشگفتار

بیماری آنتراکنوز (anthracnose) یکی از بیماری‌های مهم گیاهی است که با علائم زخم‌های فرورفته در بافت‌ها و با حاشیه مشخص روی اندام‌های مختلف گیاهان میزبان دیده می‌شود. عوامل این بیماری متعلق به گونه‌های جنس *Colletotrichum* هستند و سبب پوسیدگی میوه، طوقه و مرگ گیاهچه‌ها می‌شوند. بیماری در مراحل مختلف رشد گیاه و تولید میوه خسارتزا و از اهمیت اقتصادی در گلخانه و به ویژه کشت مزرعه‌ای برخوردار است. آنتراکنوز توت‌فرنگی توسط قارچ‌های بیمارگر

C. gloeosporioides species complex و *C. acutatum* species complex ایجاد می‌شود، هر چند گروه گونه‌ای *C. acutatum* در توت‌فرنگی به عنوان عوامل شایع بیماری‌زا بوده و تقریباً در سراسر جهان گزارش شده است. برای ارائه برنامه‌های پیشگیری، ردیابی و مدیریت صحیح بیماری، شناسایی دقیق و به موقع عوامل آن از اهمیت ویژه برخوردار است. برای این منظور نشریه فنی حاضر در راستای ردیابی بیماری آنتراکنوز و عامل اصلی آن، گونه مرکب *C. acutatum* به لحاظ ریخت‌شناسی، ارزیابی‌های میکروسکوپی و روش‌های مولکولی و مدیریت تلفیقی این بیماری تهیه شد.

مقدمه

توتفرنگی (*Fragaria × ananassa* Duch.) گیاهی علفی، چند ساله و از تیره گل سرخیان است. تشکیل و نمو فندقه‌های میوه توتفرنگی بعد از باروری شروع می‌شود. میوه توتفرنگی یک میوه حقیقی نیست و قسمت خوراکی گوشتی آن ناحیه نهنج بزرگ شده است که فندقه‌ها در سطح آن تشکیل می‌شوند (Sharma and Sharma, 2004). سطح زیرکشت توتفرنگی در فضای باز (مزرعه) و گلخانه در ایران به ترتیب ۵۴۰۰ و ۵۵۰ هکتار در سال ۱۳۹۸ بوده است. مقدار تولید در فضای باز و گلخانه به ترتیب ۶۵۰۰۰ و ۲۲۰۰۰ تن و عملکرد در آن‌ها به ترتیب حدود ۱۳ و ۴۴ تن در هکتار برآورد شده است (بی‌نام ۱۳۹۹).

علائم بیماری روی میوه مشهود بوده و خسارت زیادی در برخی مزارع ایجاد می‌نماید که برآورد دقیقی از آن در دست نیست، اما خسارت روی سایر قسمت‌ها به راحتی قابل تشخیص نبوده و از سایر بیماری‌های برگ‌ی و یا طوقه و ریشه به راحتی قابل تشخیص نیست. آنتراکنوز معمولاً به علایمی شامل زخم‌های بافت مرده و فرورفته با حاشیه مشخص روی اندام‌های مختلف گیاهان میزبان گفته می‌شود، اما عوامل این بیماری که متعلق به جنس *Colletotrichum* هستند سبب پوسیدگی طوقه و مرگ ناگهانی گیاهچه‌ها نیز می‌شوند. این قارچ‌ها براساس شواهد علمی و اقتصادی موجود، در بین ده گروه مهم قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی قرار گرفته‌اند (Dean et al., 2012). گرمایش هوا، تغییر الگوی کشت و نوع

آبیاری و نیز جایگزینی ارقام جدید با رقم بومی سبب اهمیت این بیماری در سالیان اخیر در مناطق کشت ایران شده است. لزوم وجود برنامه های پیشگیری و کنترل بیماری در شرایط همه گیری از جمله استفاده از ارقام نسبتاً مقاوم و گاهاً مصرف قارچ کشها را نیز در این محصول با ارزش باغی ایجاب می نماید. با توجه به مسأله باقیمانده سموم و امنیت غذایی مصرف کنندگان و نیز ملاحظات زیست محیطی توصیه سموم موثر و کم خطر قبل از وقوع بیماری با تشخیص به موقع از اولویتهای این برنامه ها است (بهرامی کمانگر و همکاران ۱۳۹۹). تاکنون قارچ کشی برای کنترل این بیماری در مزارع و گلخانه های توتفرنگی ایران ثبت نشده است. با توجه به مسأله باقیمانده سموم و امنیت غذایی مصرف کنندگان و نیز ملاحظات زیست محیطی استفاده از سموم کم خطر در کنترل بیماری بسیار حایز اهمیت است. علیرغم تبدیل سیستم های آبیاری بارانی به نواری در مزارع توتفرنگی این بیماری بویژه در مناطق مرطوب استان کردستان هنوز مشکل ساز است.

روش های مولکولی و آنزیمی متنوعی برای شناسایی دقیق عامل بیماری و ردیابی آن در اندام های گیاهی وجود دارد. روش های مبتنی بر واکنش زنجیره ای پلی مرآز (Polymerase Chain Reaction) یا PCR جزو روش های دقیق با تکرار پذیری بالا به شمار می آیند. از جمله این روش ها می توان به PCR براساس دو آغازگر

اختصاصی و multiplex-PCR با چند آغازگر اختصاصی اشاره کرد این روش‌ها بسیار اختصاصی و دقیق و با هزینه نسبتاً کم قابل انجام است. علاوه بر روش‌های مبتنی بر PCR، استفاده از روش‌های انگشت نگاری ژنتیکی مانند RFLP نیز برای شناسایی *C. acutatum sensu lato* گزارش شده است. در یک مورد به روش RFLP و مجموعه آغازگرهای GSF1 / GSR1، یک قطعه یک کیلو بازی از ژن گلوتامین سنتتاز (GS) را تکثیر کرده و سپس محصول PCR را با رستریکشن آنزیم Pst از محل‌های ویژه برش داده و پروفیل قطعات ایجاد شده با استفاده از الکتروفورز نمایش داده می‌شود (Furuta et al. 2017).

تکثیر هم‌دمای DNA وابسته به حلقه (Loop-Mediated Isothermal Amplification of DNA) یا LAMP هم از روش‌های با پایه PCR است ولی نیازی به دستگاه ترموسایکلر نیست. این روش می‌تواند ژن‌های هدف را تحت شرایط هم دما، بدون نیاز به نوسان ساز حرارتی تکثیر کند و مستقیماً از طریق بررسی تغییر رنگ در نمونه‌ها یا توسط الکتروفورز نتیجه واکنش را مشخص نماید. این روش را با استفاده از دستگاه‌های پرتابل می‌توان انجام داد و حتی در داخل مزرعه به جواب رسید. علاوه بر این در هر آزمایشگاهی با وجود تامین حرارت ثابت در حدود ۶۵ درجه سانتیگراد (حمام بن‌ماری و یا ترمال‌بلاک) انجام آن ممکن می‌باشد. این روش به دلیل استفاده از تعداد بیشتر آغازگر (دو تا سه جفت) بسیار اختصاصی عمل کرده و

به همین دلیل، امکان واکنش غیر اختصاصی با DNA غیر هدف در آن بسیار کمتر است. در این روش هرچند سرعت انجام واکنش سریع است ولی دقت و تکرار پذیری این روش در مقایسه با روش‌های مبتنی بر PCR کمتر و احتمال تداخل بیشتر است (Malarczyk *et al.* 2019). واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرآز در زمان واقعی (Real Time PCR) از دقیق‌ترین و کارآمدترین روش‌های تشخیص و ردیابی به شمار می‌آید ولی هزینه تامین و نگهداری دستگاه و همچنین کیت‌های مورد مصرف بسیار بالا است (Debode *et al.* 2009). با توجه به موارد مذکور در حال حاضر بهترین گزینه برای تشخیص و ردیابی این بیماری و عوامل آن، روش مبتنی بر PCR با آغازگرهای اختصاصی است.

بیماری آنتراکنوز توت‌فرنگی

عامل بیماری قادر به آلوده کردن همه اندام‌های گیاه توت‌فرنگی است ولی برخی از اندام‌ها از جمله برگ و دم‌برگ، رونده (stolon)، طوقه (crown) و میوه بیشتر در معرض حمله هستند. برگ و دم‌برگ آلوده گاهی توسط زخم‌هایی که حاوی توده اسپور است انباشته می‌شوند (شکل ۱). آلودگی در مواردی باعث ایجاد شکاف در ساقه شده و در صورت آلوده شدن دم‌برگ و ساقه رونده کل گیاه خشک می‌شود. طوقه‌های آلوده قهوه‌ای و قرمز رنگ می‌شوند و تمام گیاه پژمرده شده و از بین می‌رود (شکل ۲).



شکل ۱: برگ و دم‌برگ آلوده (راست و وسط) و گل و دمگل با علائم بیماری آنتراکنوز. علائم آلودگی در تمام مراحل رشد میوه، زخم‌های آبکی و سفید به قطر حدود ۳ میلی‌متر می‌باشد که بعداً قهوه‌ای شده و سرانجام تمام میوه را در بر می‌گیرد. این زخم‌ها نیز حاوی اسپوره‌های رنگین هستند. میوه در پایان سیاه، خشک و سخت می‌شود. اسپورها از گیاهان آلوده به وسیله انتشار در آب به بوته‌های سالم انتقال می‌یابند. بیماری بیشتر در هوای گرم و مرطوب باعث خسارت زیاد می‌شود (شکل ۲). عامل بیماری معمولاً بوسیله نشاء و گیاهچه‌های آلوده به کشت‌های جدید منتقل می‌شود. گیاهچه‌های آلوده ممکن است دارای علائم باشند اما غالباً دارای آلودگی‌های غیر فعال و پنهان روی اندام‌های رویشی هستند، که معمولاً محسوس نیست. دمای بهینه برای ایجاد آلودگی بین ۲۵ تا ۳۰ درجه سلسیوس

است. مدت زمان خیس بودن یا رطوبت لازم برای ایجاد آلودگی و خسارت بستگی به درجه حرارت حداقل ب مدت ۴ تا ۶ ساعت دارد.



شکل ۲: علایم پژمردگی و خشکی در بوته های آلوده به عامل بیماری (راست) و پوسیدگی طوقه توتفرنگی (چپ).



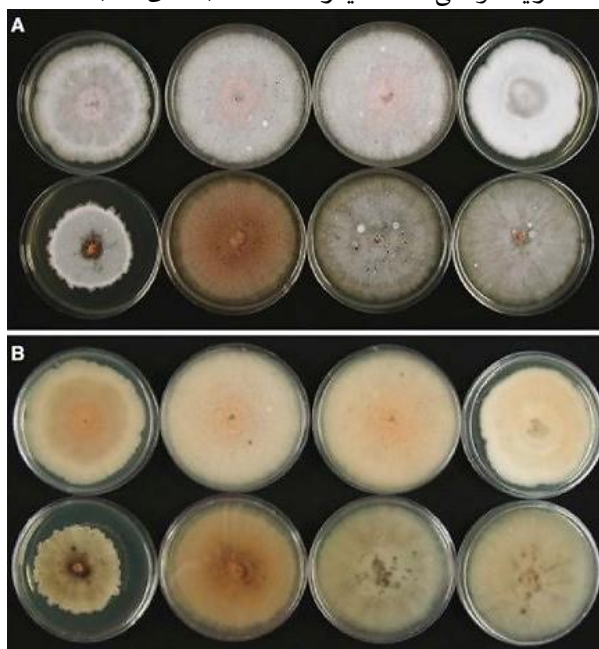
شکل ۳: علائم بیماری آنتراکنوز میوه توتفرنگی

عوامل بیماری

آنتراکنوز توت فرنگی معمولاً توسط قارچ‌های بیمارگر متعلق به دو گروه گونه *C. acutatum* species complex و *C. gloeosporioides* species complex ایجاد می‌شود. گونه‌های *C. acutatum* sensu stricto و *C. nymphaeae* از گروه گونه *C. acutatum* species complex و گونه *C. gloeosporioides* species complex از گروه گونه *fragariae* از مهم‌ترین قارچ‌های عامل این بیماری در مناطق مختلف کشت توت‌فرنگی محسوب می‌شوند. هر چند گروه گونه *C. acutatum* در توت‌فرنگی به عنوان عوامل شایع بیماری‌زا بوده و تقریباً از سراسر جهان گزارش شده است و در ایران نیز مهم‌ترین عامل آنتراکنوز معرفی شده است (Karimi et al. 2017; Damm et al. 2012).

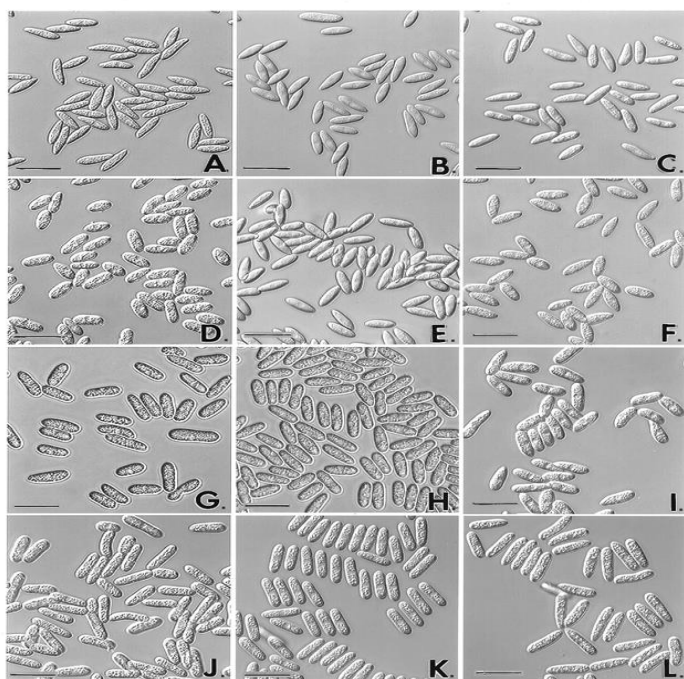
**شناسایی (ردیابی) عامل بیماری
(*Colletotrichum acutatum* species complex) براساس
صفات ریخت‌شناختی**

پرگنه و شکل کنیدیوم در این گروه گونه‌ای از تنوع نسبی برخوردار است. بطوری‌که رنگ پرگنه‌ها در محیط کشت سیبزمینی-دکستروز-آگار و دمای ۲۵ درجه سلسیوس با نور متناوب ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی از صورتی چرک تا زیتونی متغیر است (شکل ۴).



شکل ۴: انواع پرگنه در گونه مرکب *C. acutatum* species complex، A. شکل پرگنه از روبروی ظرف پتری و B. از پشت ظرف پتری (Schiller et al. 2006)

برای بررسی ریختشناسی میکروسکوپی جدایه‌ها در محیط کشت‌های استاندارد از جمله کشت سیبزمینی-دکستروز-آگار و محیط آگار و مواد مغذی مصنوعی فقیر (SNA) (Nirenberg, 1976) کشت داده شده و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی به مدت ۱۰ روز نگهداری می‌شوند. کنیدیوم‌ها بیضی تا استوانه‌ای و بی‌رنگ طول آن‌ها از ۱۵ تا ۱۸ میکرو متر متغیر است (شکل ۵).



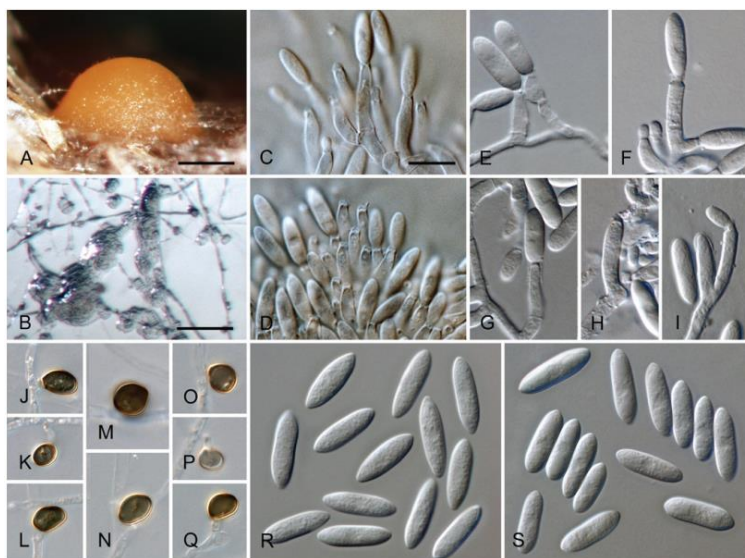
شکل ۵: شکل و اندازه کنیدیوم‌های گروه گونه *C. acutatum* species complex، محیط کشت سیبزمینی-

دکستروز-آگار، مقیاس=۲۰ میکرو متر (Schiller
et al. 2006).

توصیف گونه مرکب *Colletotrichum acutatum* J.H. Simmonds

تاکنون فرم جنسی این گونه مرکب مشاهده نشده است. شکل غیر جنسی روی محیط کشت SNA به صورت ریشه‌های به قطر ۵-۱ میکرومتر، شفاف با دیواره صاف و دارای دیواره عرضی، فاقد کلامیدوسپور و خار، به ندرت دارای کنیدیوماتا. کنیدیوم‌برها شفاف، با دیواره صاف، اغلب بدون انشعاب‌گاهی اوقات منشعب و چند شاخه، یاخته کنیدیوم‌زا شفاف با دیواره صاف، استوانه‌ای شکل، گاهی در وسط پهن‌تر، به ابعاد $3/5 - 2 \times 5/3 - 20$ میکرومتر با یقه واضح. کنیدیوم‌ها تک سلولی، شفاف با دیواره صاف و راست، استوانه‌ای یا دوکی شکل، هر دو انتها گرد به ابعاد $3/5 - 4 \times 11 - 14/5$ میکرومتر، آپرسوریوم منفرد، قهوه‌ای رنگ با دیواره صاف اغلب استوانه‌ای تا تخم مرغی شکل به ابعاد $5/5 - 9 \times 4 - 6/5$ میکرومتر (Damm et al. 2012) (شکل ۶).

پرگنه روی محیط کشت SNA ریشه‌ها شفاف چسبیده به سطح با ریشه‌های هوایی، قطر پرگنه بعد از ۷ روز ۲۱ تا ۲۵ میلی‌متر. روی محیط کشت OA پرگنه مخملی به رنگ زرد قرمز، زعفرانی تا هلویی رنگ، وجود سکتور در قسمت مرکزی پرگنه به رنگ زرد قرمز تا دودی و گاهی خاکستری زیتونی رنگ. قطر پرگنه بعد از ۷ روز ۲۰ تا ۲۵ میلی‌متر، توده کنیدیوم‌ها به رنگ زعفرانی تا نارنجی (Damm et al. 2012).



شکل ۶: ساختارهای میکروسکوپی قارچ *Colletotrichum acutatum*. A-B: کنیدیوماتا؛ C-I: کنیدیوم‌برها؛ J-Q: اپرسوریوم؛ R-S: کنیدیوم‌ها. مقیاس در قسمت‌های A = ۲۰۰ میکرومتر، B = ۱۰۰ میکرومتر، C = ۱۰ میکرومتر (برگرفته از منبع Damm et al. 2012).

ردیابی مولکولی

ژن‌های مناسب برای بارکد این گونه، نواحی ژنی *gapdh*، *tub2*، *his3* و *act* می‌باشند (Damm et al. 2012, Marin-Felix et al. 2017). بر اساس مطالعات مولکولی مشخص شده است که گونه *Colletotrichum acutatum* یک گونه مرکب بوده و حداقل ۳۱ گونه را شامل می‌شود (Damm et al. 2012). در ایران کریمی و همکاران (2017) با استفاده مطالعات مولکولی

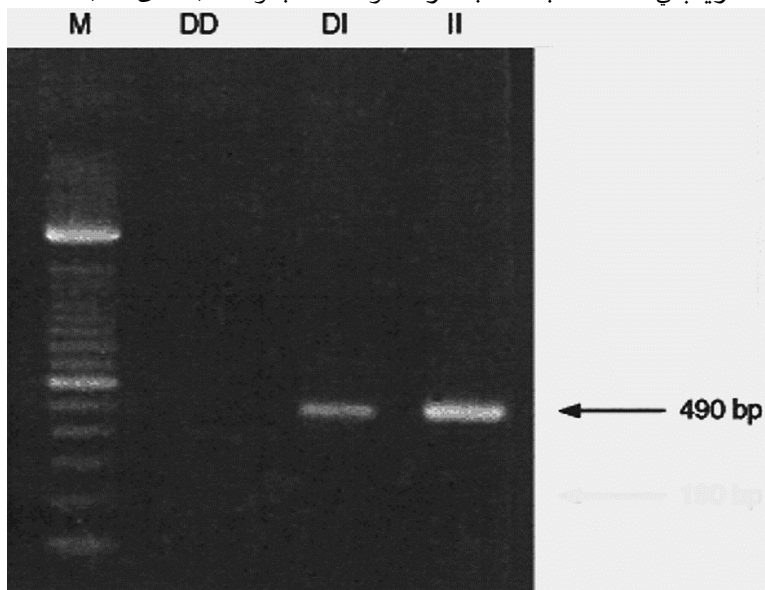
نشان دادند، گونه فعال روی توتفرنگی در استان کردستان گونه *C. nymphaeae* (یکی از اعضای کمپلکس *C. acutatum*) است.

استخراج DNA ژنومی برای استخراج DNA از اندام‌های گیاهی روش‌های مختلف از جمله استفاده از کیت‌های استخراج DNA تجاری موجود است. ولی یکی از کاربردی‌ترین و مقرون به صرفه‌ترین روش‌ها، استفاده از روش تغییر یافته cetyltrimethyl (CTB ammonium bromide) است (Aamir et al. 2015).

تکثیر ناحیه ژنی اختصاصی در این روش از آغازگرهای اختصاصی CaInt2 و ITS4 (GGGGAAGCCTCTCGCGG) و (TCCTCCGCTTATTGATATGC) تکثیر کننده بخشی از ناحیه ITS استفاده می‌شود (Ureña-Padilla et al. 2001). برای این منظور واکنش ۳۰ میکرولیتری، از ترکیب سه میکرولیتر ۱۰X PCR Buffer، ۲ میلی‌مولر $MgCl_2$ ، ۰/۸ غلظت dNTPs با غلظت ۰/۸ میلی‌مولر، ۰/۸ میکرومول از هر آغازگر، حدود ۲۰ نانوگرم DNA ژنومی و ۰/۴ میکرولیتر Taq DNA polymerase (5 U/μl) و آب دو بار تقطیر سترون جهت رسانیدن محلول به حجم مورد نظر صورت گیرد.

چرخه حرارتی برای تکثیر ژنگاه

واسرشت سازي اوليه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت سه دقیقه و به دنبال آن ۳۵ چرخه دمایی ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها ۶۰ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه، توسعه آغازگرها در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه و توسعه نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ده دقیقه انجام شود. محصول PCR در ژل آگارز ۱/۵% الکتروفورز گردد تا باندهای حاصل از واکنش بررسی شوند. در صورت آلودگی بافت به *C. acutatum*، محصول واکنش زنجیره ای پلیمرز، قطعه ای به طول تقریبی ۴۹۰ جفت باز خواهد بود (شکل ۷).



شکل ۷: باند ۴۹۰ جفت باز تکثیر شده (چاهکهای DI و II) و بدون باند (چاهک DD)

منتج از اندام آلوده به بیمارگر *C. acutatum* و بدون آلودگی.

پیشنهادهای

۱- در صورت زیاد بودن تعداد نمونه‌های گیاهی، پیشنهاد می‌شود برای تسریع و کاهش هزینه‌های ردیابی، نمونه‌ها به چند گروه تقسیم و هر گروه مورد آزمون قرار گیرند. در صورت مثبت بودن نتیجه آزمایش آن گروه، هر نمونه به تفکیک مورد آزمون قرار گیرد.

۲- برای تسریع در انجام PCR می‌توان از مسترمیکس‌های تجاری موجود در بازار به جای مواد مولکولی مذکور در روش انجام PCR استفاده کرد ضمن این که افزایش هزینه چشم‌گیر نیست.

۳- در حال حاضر جایگزین‌های دوستدار محیط زیست با قیمت‌های مناسب برای اتیدیوم بروماید موجود است. این رنگ‌های کم خطر (DNA safe stain) ضمن کم خطر بودن برای کاربر، به سرعت در طبیعت تجزیه می‌شوند.

مناطق پراکنش

این گروه گونه‌ای بیماری‌زا در بسیاری از مناطق ایران از جمله استان‌های گیلان، استان کردستان و البرز پراکنده است (ارشاد، ۱۳۸۸؛ Karimi et al. 2017).

مدیریت بیماری

رطوبت و شبنم صبح‌گاهی و زمان مرطوب ماندن میوه برشدت بیماری تاثیر دارد لذا استفاده از آبیاری قطره‌ای و پوشش‌های پلی‌اتیلن به عنوان مالچ تاثیر بسزایی در کاهش بیماری بخصوص در میوه‌ها دارد. استفاده از مالچ کاه و کلش در اطراف بوته‌ها به منظور جلوگیری از تماس میوه‌ها با خاک در کاهش بیماری به‌طور چشمگیری موثر است. مالچ نایلون سیاه سبب افزایش بیماری می‌شود و از آن در مناطق آلوده نباید استفاده کرد.

میوه‌های جوان و سالم در مقایسه با میوه متوسط رسیده، کمتر به بیماری حساس هستند. استفاده از پتانسیل ارقام مقاوم، به همراه بکارگیری عوامل بیوکنترل از راهکارهای مهم مدیریت این بیماری است و در تولید محصول سالم جایگاه ویژه‌ای دارد. بعلت تازه خوری و ساختار بسیار نازک پوست میوه توت فرنگی، لازم است تصمیم‌گیری در مورد استفاده از سموم با دقت و آگاهی انجام گیرد و لذا استفاده از عوامل بیوکنترل و ارقام داری منابع مقاوت به بیماری در اولویت هستند. استفاده از سم در مدیریت بیماری‌ها همواره باید گزینه آخر باشد، اما در مواردی که به علل مختلف بیماری شدت یابد ناگزیر باید از قارچ‌کش‌های با دوره کارنس کوتاه و کم خطر برای انسان و محیط زیست بهره برد. مقاومت کامل در برابر بیماری وجود ندارد ولی بر اساس بررسی‌های انجام شده توسط بهرامی

کمانگر و همکاران، رقم 'Gaviota' به طور معنی-
داری بیشترین حساسیت را نسبت به بقیه ارقام
داشت (بهرامی کمانگر و همکاران ۱۳۹۹).
اغلب ارقام تجاری رایج در ایران از جمله
'Camarosa'، 'Paros'، 'Pajaro' و 'Queen Eliza' به ترتیب
جزو ارقام بسیار حساس و حساس طبقه بندی
می‌شوند.

زمان کود دهی به‌ویژه کود ازت یا اوره نیز
مهم است. مصرف بیش از حد کودهای ازت
مخصوصاً در بهار قبل از برداشت از سویی موجب
افزایش رشد رویشی و حساس شدن بافت‌ها
می‌گردد. بعلاوه این افزایش در رشد رویشی
سبب تراکم برگ‌ها و کاهش تهویه شده، از خشک
شدن سریع میوه‌ها پس از بارندگی یا آبیاری
جلوگیری کرده و میزان پوسیدگی میوه را
افزایش می‌دهد. از طرف دیگر بافت میوه نیز
به بیماری حساس‌تر شده و ماندگاری میوه را
نیز کاهش می‌دهد. مطالعات مقدماتی حاکی از
آن است که تلفات گیاهان نیز با افزایش
میزان کود افزایش می‌یابد.

فهرست منابع

- ۱- ارشاد، ج. ۱۳۸۸. قارچ‌های ایران. انتشارات وزارت جهاد کشاورزی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، تهران، ایران.
- ۲- بی‌نام. ۱۳۹۸. آمارنامه ۹۶-۱۳۹۷ کشاورزی. انتشارات وزارت جهاد کشاورزی. ۱۲۳ صفحه.
- ۳- بهرامی کمانگر، س.، شریفی، ک. و کریمی، ک. ۱۳۹۹. ارزیابی مقاومت ارقام توت‌فرنگی به گونه شایع عامل بیماری آنتراکنوز (*Colletotrichum nymphaeae*) در مزارع توت‌فرنگی کردستان. گزارش نهایی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، ۲۸ ص.
4. Aamir, S., Sutar, S., Singh, S. K., & Baghela, A. 2015. A rapid and efficient method of fungal genomic DNA extraction, suitable for PCR based molecular methods. Plant Pathol Quar, 5(2): 74-81.
5. Damm, U., Cannon, P.F., Woudenberg, J.H.C. and Crous, P.W. 2012. The *Colletotrichum acutatum* species complex. Studies in mycology, 73: 37-113.
6. Dean, R., Van Kan, J.A., Pretorius, Z.A., Hammond- Kosack, K.E., Di Pietro, A., Spanu, P.D., Rudd, J.J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J. and Foster, G.D. 2012. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. Molecular plant pathology, 13(4): 414-430.
7. Debode, J., Van Hemelrijck, W., Baeyen, S., Creemers, P., Heungens, K. and Maes, M. 2009. Quantitative detection and monitoring of *Colletotrichum acutatum* in strawberry leaves using real- time PCR. Plant Pathology, 58(3): 504-514.
8. Furuta, K., Nagashima, S., Inukai, T. and Masuta, C. 2017. Construction of a system for the strawberry nursery production towards elimination of latent infection of anthracnose fungi by a

- combination of PCR and Microtube hybridization. The Plant Pathology Journal, 33(1): 80-86.
9. Karimi, K., Ahari, A.B., Arzanlou, M., Amini, J., Pertot, I. and Rota-Stabelli, O. 2017. Application of the consolidated species concept to identify the causal agent of strawberry anthracnose in Iran and initial molecular dating of the *Colletotrichum acutatum* species complex. European journal of plant pathology, 147(2): 375-387.
 10. Malarczyk, D., Panek, J. and Frąc, M. 2019. Alternative molecular-based diagnostic methods of plant pathogenic fungi affecting berry crops: A review. Molecules, 24(7): 1200.
 11. Marin-Felix Y, Groenewald JZ, Cai L, Chen Q, Marincowitz S, Barnes I, Bensch K, Braun U, Camporesi E, Damm U & De Beer ZW. 2017. Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 1. Studies in Mycology 86: 99–216.
 12. Nirenberg, H. 1976. Studies on the morphological and biological differentiation in the *Fusarium*-section Liseola, 1-117.
 13. Schiller, M., Lübeck, M., Sundelin, T., Meléndez, L.F.C., Danielsen, S., Jensen, D.F. and Ordeñana, K.M. 2006. Two subpopulations of *Colletotrichum acutatum* are responsible for anthracnose in strawberry and leatherleaf fern in Costa Rica. European Journal of Plant Pathology, 116(2): 107-118.
 14. Sharma R.R. and Sharma V.P. 2004. The Strawberry. ICAR, New Delhi, India, 1-126.
 15. Ureña-Padilla, A.R., Mitchell, D.J. and Legard, D.E. 2001. Oversummer survival of inoculum for *Colletotrichum* crown rot in buried strawberry crown tissue. Plant disease, 85(7): 750-754.



Ministry of Jihad-e-Agriculture
Agricultural Research, Education & Extension Organization
Iranian Research Institute of Plant Protection

**Principles of identification, detection and
management of the main causal agent of
strawberry anthracnose disease
(*Colletotrichum acutatum* species complex)**

**Kasra Sharifi, Saman Bahrami Kamangar, Mones
Bakhshi and Ali Reza Javadi**

**Register No.
61563**

2022