

روابط فیلوژنتیکی مولکولی میان گونه‌های جنس *Alternaria* بر اساس توالی‌های rDNAیوبرت قوستا^۱، گرگور هگدورن^۲، رسول زارع^۳، جعفر ارشاد^۴ و ابراهیم محمدی گل تپه^۲

۱- دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه ۳- مؤسسه تحقیقات کشاورزی، برزین، استان ۳- مؤسسه تحقیقات آب و آب و هوایی، بخش رستنیها، تهران
۲- دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران

به منظور بررسی روابط فیلوژنتیکی میان گونه‌های جنس *Alternaria*، توالی‌های rDNA (شامل انتهای 3' از زیرواحد کوچک ریبوزومی، کل بخش ITS/5.8S و انتهای 5' از زیرواحد بزرگ ریبوزومی) در ۱۷ گونه جدا شده از ایران و با استفاده از آغازگرهای NS7a و NL6 تکثیر گردید. تعیین توالی‌های بخش تکثیر یافته با استفاده از آغازگرهای ITS5، NS7، و NL1، در جهت Forward و آغازگرهای ITS4، NL4، در جهت Reverse انجام گرفت. وصل تطبیق توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Sequencher (Gene Codes, Michigan) و هاردیف کردن توالی‌ها با استفاده از نرم‌افزار Gene Doc به طور خودکار انجام گرفت. همچنین هم ردیف کردن توالی‌ها به طور دستی انجام گرفت. آنالیزهای فیلوژنتیکی با روش Neighbor-Joining و با استفاده از نرم‌افزار TreeCon, Version 1.3b و با تصحیح دو پارامتری کیورا و با هزار تکرار Bootstrap انجام گرفت. آنالیز توالی‌ها گونه‌ها را در چند گروه قرار داد که با چند استثناء با گروهی‌ها بر اساس معالقات ریخت شناسی مطابقت داشتند. گونه‌های با هاگ‌های بزرگ و دارای نوک حقیقی و دوار (شامل گونه‌های *A. dauci*، *A. macrospora*، *A. zinniae* و *A. tomatophila*) یک گروه را تشکیل دادند. گونه‌های *A. triticina* و *A. infectoria* یک گروه را تشکیل دادند هر دو گونه دارای هاگ‌های کوچک هستند که بر اساس الگوی هاگ‌زایی (هاگ‌ها در زنجیرهای نسبتاً کوتاه و منشعب و با هاگ بر توبه دوار) از بقیه گونه‌های با هاگ کوچک متمایز می‌شوند. گونه *A. triticina* به دلیل تشکیل برگ‌های قهوه‌ای مایل به سیاه و عدم تولید هاگ‌ها به صورت توده‌های (جوش مانند) از گونه *A. infectoria* تفکیک می‌شود که در گونه اخیر رنگ برگ سفید و هاگ‌ها به صورت جوش مانند تشکیل می‌شوند. قرار گرفتن این دو گونه در کنار هم بر اساس آنالیزهای فیلوژنتیکی، فرضیه سه‌گانه مین بر این است که گونه *A. triticina* یک گونه ابتدایی در گروه *A. infectoria* است را تأیید می‌کند. گونه‌های از توالی‌های این بخش به عنوان یک معیار در تفکیک این گونه‌ها استفاده نمود. گونه‌های *A. japonica* و *A. brassicicola* یک گروه را تشکیل دادند که با گروهی بر اساس معالقات ریخت شناسی مطابقت ندارد و می‌تواند نمایانگر گروهی از گونه‌های ریزه‌ساز و بیماری‌زای آنها باشد زیرا که هر دو گونه روی گیاهان ریزه‌ساز و بیماری‌زای آنها هستند. گونه *A. brassicicola* به دلیل تشکیل هاگ‌ها به صورت زنجیرهای منشعب و نسبتاً دوار و هاگ‌های با بندهای عرضی که بندهای طولی به ندرت تشکیل می‌دهند از گونه *A. japonica* که با تولید هاگ‌های با بندهای عرضی و طولی، زنجیرهای کوتاه هاگ و تعداد زیاد کلایدیوسپور در رس‌ها مشخص می‌شود، متمایز می‌گردد. بقیه گونه‌ها هم گروه‌های کوچک‌تری را تشکیل دادند.

Molecular phylogenetic relationship between *Alternaria* species based on rDNA sequencesY. Ghosla¹, G. Hagedorn², D. Ershad³, R. Zare³, E. M. Goltapeh⁴

Dept. of Plant Protection, Urmia University 2- Federal Biological Research center for Agriculture and Forestry (BBA), Berlin, Germany 3- Plant Pests and Diseases Research Institute, Tehran 4- Dept. of Plant pathology, Tarbiat Modarres University, Tehran

To elucidate phylogenetic relationships between *Alternaria* species, rDNA sequences (including 3' end of 18S, ITS/5.8S and 5' end of 28S) from 17 species that were isolated from Iran, were amplified using the primers NS7 a and NL6. The amplified fragments were sequenced using primers NL1, NS7 and ITS5 (in the forward direction) and NL4, ITS4 and ITS6 (in the reverse direction). DNA sequences were adjusted using Sequencher software package and aligned using Gene Doc program. Phylogenetic analysis was performed using Neighbor-Joining method with Kimura two parameter distances. A distance tree was constructed with Tree Con (version 1.3b) software package. Bootstrap values were calculated from 1000 replications. Results showed that, with a few exceptions, species grouped in several distinct clades correlated with species groups based on morphological characteristics. Large-spored *Alternaria* species (*Alternaria dauci*, *A. macrospora*, *A. tomatophila* and *A. zinniae*) placed in a clade. *A. infectoria* and *A. triticina* placed in a clade. Both species had the same sporulation pattern, but there were some other morphological differences among them. Our results supported Simmons opinion that *A. triticina* is a primary species in the *A. infectoria* species group. *A. alternata*, *A. arborescense* and *A. tenuissima* were placed in a clade, but their sequences were identical. Therefore, this fragment could not be used to distinguish among these species. *A. brassicicola* and *A. japonica* were placed in a clade. This is not correlated with grouping based on morphological characteristics, although it could be correlated with grouping based on ecology and pathogenicity, because both species are pathogens of cruciferous plants. Other species were placed in small clades.