بیماری زوال مو در استان فارس*

Grapevine decline in Fars province

حمید محمدی و ضیاءالدین بنی هاشمی**

بخش گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

دریافت ۱۳۸۶/۶/۲۸ پذیرش ۱۳۸۶/۱۲/۱

چکیده

به‌منظور بررسی بیماری اسکای مو (زوال یا سکته مو) در استان فارس، طی سالهای ۱۳۸۵-۱۳۸۳ از باغات انگور مناطق مختلف استان از جمله آباده (جوادیه و جنت‌آباد)، اقلید، بوانات (سوریان و بوانات)، کوار (اکبر آباد و دشتک) و اطراف شیراز از شاخه و تنه موهای دارای علائم بیماری نمونه‌برداری و به آزمایشگاه منتقل گردید. در این بررسی ۵۱ جدایه قارچ شامل گونه‌های *Fusarium* sp. *Phaeoacremonium aleophilum, Phaeomoniella chlamydospora,* *Phaeoacremonium* sp.,*Phoma* sp., و *Nattrassia* sp. از موهای دارای علائم سرخشکیدگی، کوتولگی، تغییر رنگ برگ‌ها و قهوه‌ای شدن آوندها جداسازی گردید که *Phaeoacremonium* با ۲۷ جدایه و *Fusarium* sp. با دو جدایه به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد جدایه‌های بدست آمده را شامل شدند. آزمون بیماریزایی به روش فرو بردن ریشه در سوسپانسیون اسپور در شرایط گلخانه و مایه‌زنی به شاخه در شرایط مزرعه و تنها در مورد جدایه‌های *P. aleophilum* و *Pm. chlamydospora* انجام شد. نتایج حاصل از آزمون بیماری‌زایی در گلخانه نشان داد که نه ماه پس از مایه‌زنی قلمه‌ها، علائم برگی بر روی قلمه‌ها ظاهر شد که این علائم در ابتدا به صورت زردی بین رگبرگها و سپس قرمزی این نواحی و حاشیه برگ‌ها مشاهده گردید و در نهایت باعث خشک شدن و ریختن برگها شد. نتایج بدست آمده از مایه‌زنی در

* بخشی از رساله دکتری نگارنده اول ارائه شده به دانشگاه شیراز

** مسئول مکاتبه

Archive of SID

www.SID.ir

شرایط مزرعه‌ای نیز نشان داد که که این دو گونه قادرند به خوبی در محل مایه‌زنی شده فعالیت نموده به سمت بالا و پایین این محل نیز پیشرفت کند و باعث ایجاد تغییر رنگ چوب در شاخه های مایه‌زنی شده شوند. از درختان مایه‌زنی شده که دارای علائم بیماری بودند مجددا قارچ جداسازی و شناسایی گردید.

واژه‌های کلیدی: اسکا، سکته مو، *Phaeoacremonium* ، *Phaeomoniella*

مقدمه

بیش از ۱۰۰ سال پیش در فرانسه و کالیفرنیا یک بیماری روی مو گزارش شد که عامل مشخصی نداشت با این وجود در فرانسه آن را Folletage و در کالیفرنیا آن را sunstroke (آفتاب‌زدگی) نامیدند (Anonymous 1985) و در هر دو مورد تغییرات اساسی فیزیولوژیکی در مو مشاهده می‌شد (Chiarappa 2000) مطالعات روی این بیماری در سال ۱۸۹۸ در فرانسه آغاز شد که در حال حاضر نیز ادامه دارد (Chiarappa 2000). در سال ۱۹۰۹ اولین گزارش از وجود ریسه‌های قارچی در بافت موهای بیمار چاپ شد و بیان شد که عامل بیماری ماهیت پارازیتی داشته و با توجه به وجود اسپوروکارپ بر روی میزبان، عامل بیماری *Fomes igniarius* شناسایی و معرفی گردید هر چند که آزمون‌های بیماریزایی در این خصوص موفقیت چندانی نداشتند. در سال ۱۹۱۲ مطالعاتی روی زوال مو انجام شد هر چند این مطالعات به‌طور مستقیم مربوط به بیماری اسکا نبود ولی دو جدایه *Cephalosporium* و یک جدایه *Acremonium* از مو بدست آمد که پس از انجام آزمون بیماریزایی علائمی شبیه به اسکا مشاهده گردید (Chiarappa 2000) . اگر مطالعات سالهای ۱۸۹۸ تا ۱۹۲٦ را به عنوان اولین دوره مطالعات موثر روی بیماری اسکا در نظر بگیریم، دوره دوم این مطالعات مربوط به سال ۱۹۵۷ تا ۱۹۵۹ می باشد. در سال ۱۹۵۷ هویت در کالیفرنیا روی ارقام تجاری Red Malaga بیماری خال سیاه را گزارش نمود (Hewitt 1957). در سال ۱۹۵۹ همین رقم توسط Chiarappa جهت تعیین رابطه بین خال سیاه و پوسیدگی داخلی چوب مو مورد مطالعه قرار گرفت (Chiarappa 1959) در این مطالعه از موهایی که پوسیدگی داخلی را نشان می‌دادند چندین جدایه قارچ جدا گردید که تنها *F. igniarius* (که بعدها به *Phellinus igniarius* تغییر نام داد) و گونه‌ای از *Cephalosporium* قارچ‌هایی بودند که به طور مداوم جدا می‌شدند (Mugnai *et al*. 1999 و Chiarappa 2000). دوره

Archive of SID

www.SID.ir

سوم مطالعات روی اسکا از سال ۱۹۸۷ و با مطالعات *دوبس و لاریگنون* (Dubos & Larignon 1988) شروع و تا حال نیز ادامه دارد. این دو پیشنهاد دادند که بیماری اسکا در مو در اثر جانشینی بعضی از قارچها در آوندهای بیمار به جای کلنیزه کننده های اولیه، یعنی گونه های *Cephalosporium* و *Eutypa lata* صورت می گیرد. در سال ۱۹۹٦ جنس جدیدی تحت نام *Phaeoacremonium* که شامل شش گونه بود از مو جداسازی، شناسایی و گزارش گردید (Crous *et al*. 1996). جنس *Phaeoacremonium* مربوط به رده Hyphomycetes است که گونه‌های آن در انسان و درختان ایجاد بیماری می‌کنند (Crous *et al*. 1996). در ابتدا گونه‌هایی مانند *Phaeoacremonium aleophilum* ، *P. angutius*، *P. inflatipes* ، *P. rubrigenum* ، *P. parasiticum* و *P. chlamydosporum* به‌عنوان عامل بیماری اسکا از مو گزارش شده‌اند که گونه اول به عنوان گونه غالب در بیماری اسکا در مو شناخته می‌شود (Crous *et al*. 1996). مطالعات بعدی نشان داد که *P. chlamydosporum* قادر به تشکیل پیکنیدیوم است (Edwards & Pascoe 2001, Eskalen *et al*.2002). بررسی‌های مولکولی انجام شده توسط Dupont و همکاران (۱۹۹۸) براساس بخشی از ترادف‌های rDNA نشان داد که جنس *Phaeoacremonium* یک جنس ناهمگن است و پیشنهاد شد که *P. chlamydosporum* ظاهرا به آسکومیست‌های راسته Chaetothyriales و خانواده Herpotrichiellaceae نزدیکتر است و بقیه اعضای این جنس با خانواده Magnaporthaceae از راسته Diaporthales ارتباط دارند (Pascoe *et al*. 2004). مطالعات انجام شده توسط کروس و گمس نتایج دوپونت (۱۹۹۸) را تایید نموده و *P.chlamydosporum* را به جنس جدید *Phaeomoniella chlamydospora* منتقل کردند (Crous & Gams 2000). اخیرا نیز گونه جدیدی به نام *P. viticola* از مو و از کالیفرنیا گزارش شده است (Eskalen *et al*. 2005).

در مطالعات بعدی جدایه‌ای از *Cephalosporium* که توسط *چیاپرا* (Chiarappa 1959) از کالیفرنیا گزارش شده بود نیز به *Phaeoacremonium chlamydosporum* تغییر نام داد. مطالعات انجام شده براساس آنالیز اندام باردهی *Phellinus* نیز نشان داد که این قارچ در حقیقت *Fomitiporia punctata* است (Serra *et al*. 2000). گرچه مطالعات قبلی قارچهای متفاوتی را به عنوان عامل زوال مو معرفی کرده بودند ولی بعضی از آنها به دلیل تشخیص نادرست به

Archive of SID

www.SID.ir

جنس‌های دیگر منتقل شدند به‌طوری که اخیرا گونه‌های مختلف جنس *Phaeoacremonium* و گونه *Phaeomoniella chlamydospora* به عنوان عامل اصلی بیماری اسکا در بسیاری از مناطق جهان گزارش شده اند. اگر چه مطالعه چندانی در خصوص زوال مو در داخل ایران انجام نشده است ولی گزارشات حاکی از آن است که تاکنون چهار گونه *Phaeoacremonium* شامل: *Pm. aleophilum* ، *Pm. iranianum* ، *Pm. viticola* و *Pm. parasiticum*، (Mostert *et al.* 2006) و گونه های *Phaeomoniella chlamydospora* *Fomitiporia mediterranea* (Grafenhan 2006) از مناطق مختلف ایران جداسازی و شناسایی شده است. مطالعه‌ای که به صورت اجمالی روی زوال مو در استان خراسان در سالهای ۱۳۸۵و ۸۶ انجام شده است نیز حاکی از جداسازی *Cephalosporium* sp. ، *Acremonium* sp. ، *Fomitiporia* sp. و *Phaeoacremonium* sp. است که هیچ‌کدام از جدایه‌ها در سطح گونه شناسایی و گزارش نشده است (Karimi Shahri & Farashiyani 2006).

از نظر مورفولوژیکی جنس *Phaeoacremonium* حدواسط بین دو جنس *Acremonium* و *Phialophora* قرار دارد. وجود ریسه‌های رویشی و کنیدیوفورهای رنگین این جنس را از *Acremonium* و وجود سلول‌های مولد کنیدیوم aculeate و یقه‌دار (collarettes) یا نامشخص، آن را از *Phialophora* متمایز می‌کند. سطح زیرین پرگنه‌های این قارچ روی محیط‌کشت Malt extract agar (MEA) معمولا زرد نخودی، سبز زیتونی یا عسلی است. پرگنه آن روی MEA بیشتر به رنگ قهوه‌ای، صاف و تقریبا متراکم است که بعضی مواقع نیز بافتی پشمی (woolly) دارند. طول کنیدیوفورها متفاوت است و دارای پنج تا هفت دیواره عرضی بوده و اکثرا قهوه‌ای کمرنگ هستند که در انتها و نزدیک سلول‌های مولد کنیدیوم روشن‌تر به نظر می‌رسند. روی ریسه‌های هوایی *Phaeoacremonium* sp. سه نوع فیالید مشاهده می‌شود (Hausner *et al*. 1992) که براساس طول و شکل ظاهری به سه کلاس، تیپ یک، تیپ دو و تیپ سه تقسیم می‌شوند (Mostert *et al.* 2005) . فیالیدهای تیپ یک کوتاهترین نوع فیالیدها هستند و فاقد دیواره عرضی می‌باشند. فیالیدهای تیپ دو اندازه متوسط دارند و آمپولی شکل و در قاعده متورم هستند که به‌تدریج در انتها باریک می‌شوند. فیالیدهای تیپ سه در قاعده نیمه سیلندری و در انتها ناگهان باریک می‌شوند و شکل ظاهری مانند درفش دارند. کنیدیوم‌ها

Archive of SID

www.SID.ir

ممکن است به صورت گرد، تخم‌مرغی، سیلندری، کلیوی شکل یا سوسیسی شکل دیده شوند. دو نقطه کوچک در کنیدیومهای کشتهای ۱٤–۷ روزه دیده می‌شود که در حقیقت دو واکئول حاوی روغن یا سایر مواد متابولیکی هستند که در اصطلاح به آنها biguttulate گفته می‌شود (Mostert *et al.* 2005).

Phaeomoniella یکی از اعضای رده Hyphomycetes است که از نظر مورفولوژی شبیه به *Phaeoacremonium* می‌باشد ولی با داشتن یک فرم رشد مخمری در پرگنه‌های جوان، یک سین آنامورف شبه فوما و ساختارهایی شبیه به کلامیدوسپور قابل تشخیص است (Crous & Gams 2000).

از آنجایی که بیماری اسکا یک بیماری پیچیده و مرکب است می‌تواند علائم ساختمانی و تغییرات فیزیولوژیکی مختلفی را در مو ایجاد نماید. به طور کلی این علائم را می توان به دو گروه علائم مزمن و حاد تقسیم نمود (Mugnai *et al.* 1999) . در گیاهان بالغ ۱۰–۸ ساله یا بیشتر در شاخه ها و تنه یک حالت پوسیدگی سفید مشاهده می گردد. در بعضی از موارد بخش پوسیده شده داخل تنه به سطح تنه رسیده و باعث ایجاد ترک یا شکاف در طول تنه می‌گردد که به این حالت در ایتالیا بیماری ترک خوردگی یا mal dello spacco گفته می‌شود. در برش عرضی تنه و شاخه‌های آلوده لکه‌های کوچک سیاه یا قهوه‌ای دیده می‌شود که ممکن است به صورت گروهی یا پراکنده در سطح برش زده دیده شوند و در اکثر موارد نواحی به رنگ قرمز یا قهوه‌ای بوجود می‌آید که به صورت تغییر رنگ چوب و ایجاد رگه‌های قهوه‌ای یا سیاه دیده می‌شود (Scheck *et al.* 1998a , 1988b, Mugnai *et al.* 1999) .

در برگها معمولا لکه‌هایی سبز روشن یا سبزرد به شکل گرد و نامنظم در بین رگبرگها دیده می‌شود. این لکه‌ها کم کم توسعه یافته و نکروز می‌شوند. با تغییر رنگ لکه‌ها نقوشی را در برگ ایجاد می‌شود که به دلیل شباهت آن با پوست پلنگ آن را tiger strips می‌نامند (Chiarappa 1959).

در حبه‌ها لکه‌هایی به رنگ قهوه‌ای سیاه، سبز مخملی یا ارغوانی دیده می‌شود که روی پوست حبه‌ها گسترش می‌یابند و به همین دلیل در کالیفرنیا به آن خال سیاه گفته می‌شود. (Mugnai *et al.* 1999). به حالت حاد بیماری زوال مو apoplexy یا سکته مو گفته می‌شود که در

Archive of SID

www.SID.ir

اواسط تابستان ناگهان کل درخت پژمرده شده و خشک می‌گردد (Mugnai *et al.* 1999) . علائم زوال مو با توجه به سن و فصل رشد گیاه می‌تواند متفاوت باشد ولی به‌طور کلی می‌توان به کوتولگی، کاهش فاصله میانگره‌ها ایجاد لکه روی حبه‌ها، کاهش توده ریشه، تغییر رنگ آوندها و در نهایت مرگ گیاه اشاره کرد (Scheck *et al*. 1998a, 1998b).

روش بررسی

نمونه‌برداری

در طول سال‌های ۱۳۸۵-۱۳۸۳ و در ماه‌های خرداد، تیر، مرداد و شهریور از باغات مو در بعضی از نقاط استان فارس از جمله آباده (جوادیه و جنت آباد)، اقلید، بوانات (سوریان و بوانات)، کوار (اکبر آباد و دشتک) بازدید به عمل آمد (جدول ۱) و از موهای دارای علائم بیماری (سرخشکیدگی، کوتولگی، مشاهده نقوش سبز-زرد- قرمز در برگها و قهوه‌ای شدن آوندها و ناحیه چوب) نمونه‌برداری انجام شد. از هر باغ ۵-۳ نمونه از شاخه‌ها و تنه اصلی تهیه و جهت جداسازی عامل بیماری به آزمایشگاه انتقال داده شد.

جدول ۱- زمان و محل نمونه‌برداری از باغات مو در استان فارس

Table 1. Date & location of samples collected from vineyards in Fars province

محل نمونه‌برداری Location	تاریخ نمونه‌برداری Date of sampling
کوار (اکبر آباد)KAVa	13/5/2004
کوار (دشتک) KAVd1	13/5/2004
کوار (دشتک) KAVd2	17/10/2004
کوار (دشتک) KAVd3	15/5/2005
اطراف شیراز SHI	22/8/2005
بوانات BAV	23/9/2005
بوانات (سوریان) BAVs	23/9/2005
آباده (جوادیه) ABDg	14/9/2006
اقلید EGH	14/9/2006

KAVa = Kavar (Akbarabad), KAVd Kavar (Dashtak), SHI = Shiraz, BAVs = Bavanat (Surian) , ABDg = Abadeh (Djavadieh), BAV = Bavanat, EGH = Eghlid

Archive of SID

www.SID.ir

جدا سازی عامل بیماری

برای جداسازی عامل بیماری از روش‌های زیر استفاده گردید:

۱- از نواحی تغییر رنگ یافته (نواحی تیره، قهوه‌ای و نواحی حد واسط بافت تغییر رنگ داده و سالم) در برش عرضی از شاخه‌ها و تنه اصلی قطعاتی در حدود ۵ میلیمتر جداسازی شد. قطعات به مدت ۳ دقیقه در NaOCl نیم درصد گندزدایی گردید و پس از شستشو در آب مقطرسترون و خشک کردن روی دستمال کاغذی سترون روی محیط کشت PDA (دارای ۱۰۰ میلی‌گرم تتراسیکلین در لیتر) و محیط کشت MEA قرار داده شدند. تشتک‌های پتری در تاریکی و در دمای ۲۵ºC نگهداری و به طور روزانه مورد بررسی قرار گرفتند (Rego *et al*. 2000 & Chicau *et al*. 2000).

۲- از آنجایی که آلودگی در روش اول بسیار بالا بود از روش دیگری جهت جداسازی عامل بیماری استفاده گردید. در این روش مانند روش اول قطعات، تهیه و گندزدایی شدند ولی به جای کشت روی محیط PDA یا MEA، قطعات در ارلن های ۲۵۰ میلی لیتری حاوی ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطرسترون ریخته شد و با سرعت ٦۰ حرکت رفت و برگشت به مدت نیم ساعت تکان داده شدند. سپس از سوسپانسیون حاصل به میزان ۲-۱ میلی لیتر روی تشتک‌های پتری آب-آگار ریخته و با یک میله L شکل روی محیط پخش شدند. تشتک های پتری در دمای۲۵ºC و در زیر نور تا زمان جوانه زنی اسپور ها نگه داری گردیدند. پس از ۷۲-٤۸ ساعت، به طور تصادفی چندین اسپور جوانه زده به روش تک اسپور کردن، انتخاب و روی محیط کشت PDA حاوی تتراسیکلین منتقل و در تاریکی و دمای۲۵ºc نگه داری شدند.

۳- در این روش چندین برش عرضی و طولی از شاخه‌ها و تنه اصلی که دارای تغییر رنگ بافت آوندی و چوب بودند تهیه و در شرایط مرطوب (قرار دادن در شیشه‌های مربا حاوی اسفنج مرطوب و سترون)، دمای ۲۵ºC و در تاریکی نگه داری شدند. نمونه‌ها پس از ۵-۳ هفته جهت رشد عامل بیماری یا تشکیل اندام باردهی در سطوح برش داده شده مورد ارزیابی قرار گرفتند.

خالص‌سازی و شناسایی جدایه‌ها

جدایه‌ها به روش تک اسپور کردن روی محیط کشت آب- آگار ۲ درصد خالص شده و جهت انجام مراحل بعدی (شناسایی و تشخیص جدایه‌ها) روی محیط PDA کشت و در

Archive of SID

www.SID.ir

سردخانه نگه‌داری شدند.

جدایه‌های بدست آمده با استفاده از کلیدهای موجود مورد شناسایی قرار گرفتند. جهت تشخیص *Phaeoacremonium* نیز از کلید شناسایی *کروس* و همکاران (Crous *et al*. 1996) و *موسترت* و همکاران (Mostert *et al*. 2006) استفاده شد. جهت تشخیص جدایه‌های بدست آمده از محیط کشت PDA با ۰/۱ درصد تتراسیکلین و محیط کشت MEA استفاده گردید.

آزمون بیماری‌زایی

آزمون بیماری‌زایی به سه روش و در دو شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای انجام گرفت:

- آزمون بیماری‌زایی در شرایط گلخانه

آماده سازی قلمه‌های مو

برای انجام این کار قلمه‌های گرفته شده از باغات منطقه دشتک در کوار به آزمایشگاه منتقل و جهت ریشه‌دار شدن در ماسه سترون شده کشت گردیدند. پس از ریشه‌دار شدن، قلمه‌ها به گلدان‌های جدید منتقل گردیده و در گلخانه نگه‌داری شدند. بعد از حدود هفت ماه پس از انتقال قلمه‌ها و تولید ریشه انبوه، کار مایه‌زنی انجام شد.

آزمون بیماری‌زایی

جهت مایه‌زنی، قلمه‌های ریشه‌دار شده به آرامی از گلدان خارج و ریشه آنها با سوسپانسیون اسپور(با غلظت $۱۰^{۵}\times$ ۱ اسپور در میلی لیتر) مایه‌زنی گردید و مجدداً به گلدان منتقل شد در حالی که گیاه شاهد با آب مقطر سترون مایه‌زنی گردید. گیاهان تیمار شده در شرایط گلخانه نگهداری و جهت ظهور علائم بیماری مورد بررسی قرار گرفتند (Sidoti *et al*. 2000).

آزمون بیماری‌زایی در شرایط مزرعه

مایه‌زنی به دو روش صورت گرفت در روش اول در ساقه و تنه درختان مو، زخم ایجاد و یک قرص قارچ به قطر ٤-۳ میلی‌متر در آن قرار داده شد و جهت جلوگیری از خشک شدن آن ابتدا یک پنبه مرطوب روی محل مایه‌زنی قرار داده و سپس محل مایه‌زنی با پارافیلم پوشیده شد (شکل ۳- D) در گیاه شاهد نیز از یک بلوک محیط کشت PDA بدون قارچ استفاده گردید. در روش دوم ابتدا محل مایه‌زنی هرس شد و محل هرس شده با سوسپانسیون اسپور (با غلظت $۱۰^{۵}\times$ ۱ اسپور در میلی لیتر) مایه‌زنی و مانند روش اول پوشیده شد گیاه شاهد

Archive of SID

www.SID.ir

نیز با آب مقطر سترون مایه‌زنی گردید. (Sidoti *et al*. 2000). گیاهان مایه‌زنی شده حدود ٦-٥ ماه از نظر ظهور علائم بیماری مورد بررسی قرار گرفتند.

نتیجه

نمونه‌برداری

با بازدید از باغات مناطق یاد شده مشخص گردید که بیماری زوال مو در استان فارس، در باغات جدید و قدیم وجود دارد که از علائم آن می‌توان به زوال، کم برگ شدن درخت و در مواردی ریختن تمام برگها، قرمز شدن حاشیه برگ‌ها و پیشرفت آن به سایر مناطق برگ و از همه مهمتر قهوه‌ای شدن آوندها در برش عرضی ساقه اشاره نمود (شکل ۱). هر چند در مواردی قهوه‌ای شدن آوندها در درختانی که هیچ‌گونه علائم برگی را نشان نمی‌دادند نیز مشاهده گردید. از طرفی می‌توان گفت که این بیماری در باغاتی که درختان آن بیش از ۸-۷ سال سن دارند و همچنین باغاتی که مراقبت چندانی از آنها به عمل نمی‌آید شیوع بیشتری دارد. نتایج نشان می‌دهد که بیماری اسکا در مناطق گرم و سرد استان فارس وجود دارد همچنان که این بیماری در کوار و شیراز به عنوان مناطق گرم و بوانات و آباده به عنوان مناطق سرد استان مشاهده گردید.

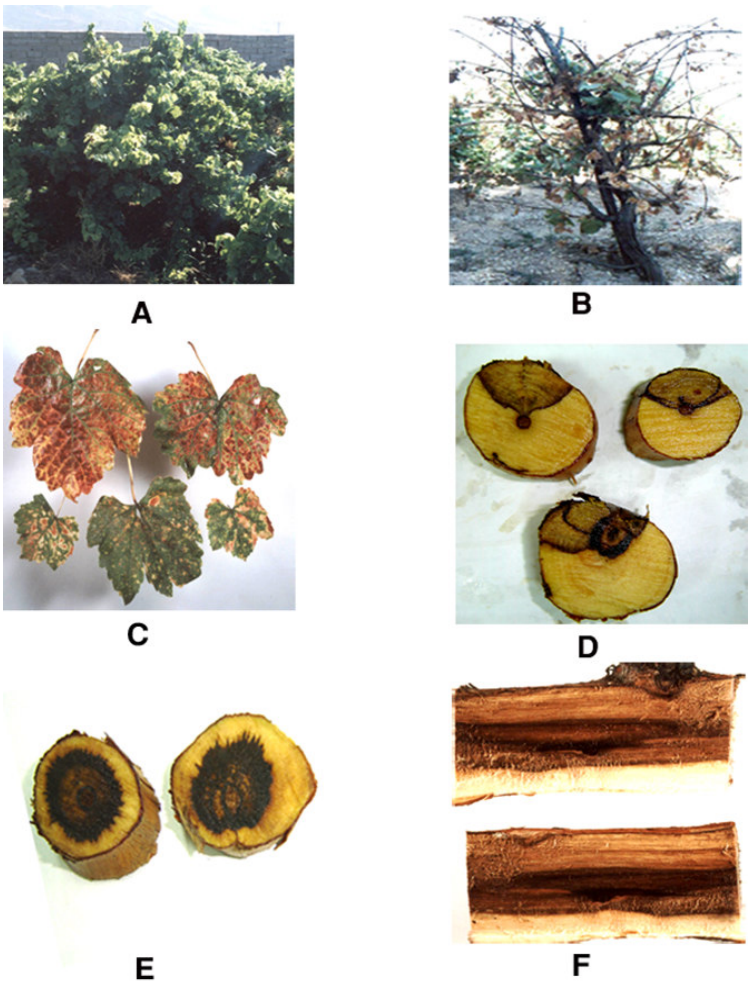
جداسازی و شناسایی عوامل بیماری‌زا

در این بررسی ٤٨ جدایه قارچ از نمونه‌های بیمار و از نقاط مختلف جداسازی و شناسایی گردید از این تعداد ۱۳ جدایه مربوط به *Nattrassia* sp., *Fusarium* sp., *Phoma* sp. و ۲۲ جدایه مربوط به *Phaeoacremonium aleophilum* و *Phaeomoniella chlamydospora* و ۱۳ جدایه *Phaeoacremonium* sp. بود که تنها در حد جنس تشخیص داده شد (جدول ۲).

نتایج نشان داد که از منطقه بوانات از موهای دارای علائم اسکا علاوه بر *Phaeomoniella* و *Phaeoacremonium* قارچ‌هایی مانند *Phoma* sp. نیز جداسازی شد و این در حالی است که در بیشتر موارد *Phaeoacremonium* به عنوان عامل بیماری زا از درختان آلوده و دارای علائم بیماری جداسازی گردید و این خود بیانگر اهمیت این جنس در بیماری زوال مو در استان فارس است.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- علائم بیماری زوال مو در استان فارس: A :درخت سالم B: درخت بیمار :C علائم برگی D و E: تغییر رنگ چوب در برش عرضی شاخه‌ها از درختان بیمار F: تغییر رنگ چوب در برش طولی.

Fig. 1. Symptoms associated with grapevine decline in Fars province, Healthy grapevine (A), Tree with decline symptoms (B), Leaf symptoms, (C) Cross section (D and E) and longitudinal section (F) showing wood discoloration.

www.SID.ir

خصوصیات *Phaeoacremonium aleophilum*

میسلیوم به صورت انفرادی یا در گروههای چند تایی، ساختار کنیدیوفور اغلب کوتاه و غیر منشعب، طول کنیدیوفور ۳۸–۱۸ میکرومتر، فیالید به‌طور غالب نوع ۲ و ۳، طول فیالید نوع اول ۷–۳ ، نوع دوم ۱۳–۸ و نوع سوم ۲۲–۱۸ میکرومتر، کنیدیومها سیلندری تخم مرغی و قلوه ای شکل، طول کنیدیوم‌ها ۵–۲ و عرض آنها ۲ میکرومتر، ریسه دارای زگیل، رنگ پرگنه روی محیط کشت MEA ۲٪ قهوه‌ای مایل به زرد یا قهوه‌ای کمرنگ، میزان رشد شعاعی در ۲۵, ۳ تا ۹ و در ۳۰°C , ۱۲ میلی‌متر بود (شکل۲–A,C, E).

خصوصیات *Phaeomoniella chlamydospora*

میسلیوم ها تکی یا در گروههای چند تایی، ریسه ها قهوه ای که در نزدیکی سلول های مولد کنیدیوم روشن‌تر می‌شوند. دارای ساختارهای شبه کلامیدوسپور روی محیط WA، کنیدیوم‌ها در ساختارهای شبیه سرهای دروغین، کنیدیوم‌ها سبز تیره، پرگنه‌ها در جوانی دارای رشد مخمری، رنگ زیر پرگنه‌ها روی محیط MEA سبز زیتونی و روی محیط کشت WA تولید پیکنیدیوم‌هایی شبیه *Phoma* کردند. (شکل۲–B,D,F)

جدول ۲– تعداد جدایه‌های قارچ بدست آمده از مناطق مختلف نمونه‌برداری شده

Table 2. Number of fungal isolates obtained from different parts of Fars Province.

گونه قارچ Fungial species	تعداد جدایه Number of isolates	محل نمونه‌برداری Location
Phaeoacremonium aleophilum	14	دشتک کوار (KAVd) اکبر آباد کوار (KAVa)
Phaeomoniella chlamydospora	8	اکبر آباد کوار (KAVa) جوادیه آباده (ABDg) بوانات (BAV)
Phaeoacremonium sp.	13	دشتک کوار(KAVd) اکبر آباد کوار (KAVa) بوانات (BAV) اطراف شیراز (SHI)

Archive of SID

www.SID.ir

Table 1 (continued) جدول ۱– (ادامه)

اقلید (EGH)		
دشتک کوار (KAVd)	2	*Fusarium* sp.
بوانات (BAV)	7	*Phoma* sp.
دشتک کوار (KAVd)	4	*Nattrassia* sp.

KAVa = Kavar (Akbarabad), KAVd Kavar (Dashtak), SHI = Shiraz, BAVs = Bavanat (Surian), BAV = Bavanat, ABDg = Abadeh(Djavadieh), EGH = Eghlid

آزمون بیماری‌زایی

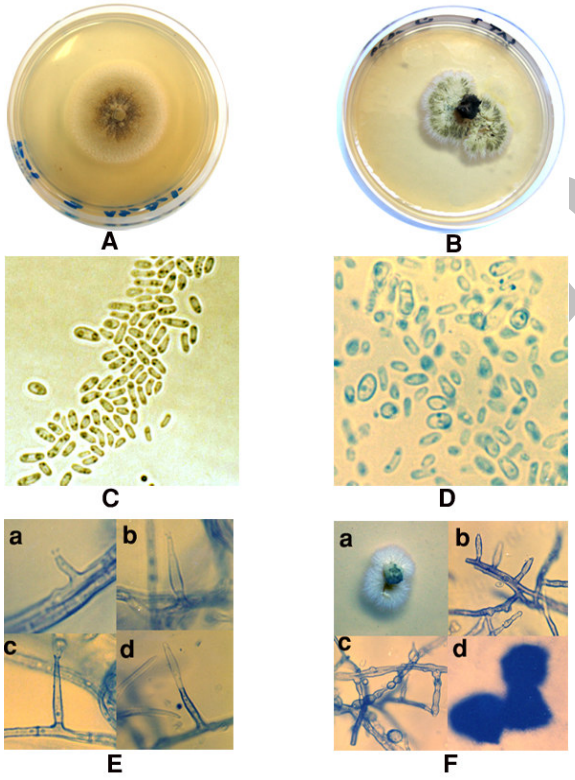
با انجام آزمون بیماری‌زایی (در مورد دو گونه *Phaeoacremonium aleophilum*, *Phaeomoniella chlamydospora*) مشخص شد که این گونه‌ها قادرند روی مو ایجاد بیماری نمایند نتایج حاصل از آزمون بیماری‌زایی در گلخانه نشان داد که نه ماه پس از مایه‌زنی قلمه‌ها، علائم برگی روی قلمه‌ها ظاهر شد که این علائم ابتدا به صورت زردی بین رگبرگ‌ها (شکل ۳–B) و سپس قرمزی این نواحی و حاشیه برگ‌ها مشاهده گردید (شکل ۳–C) و در نهایت باعث خشک شدن و ریختن برگها شد. نتایج بدست آمده از مایه‌زنی در شرایط مزرعه نیز نشان داد که *Phaeoacremonium aleophilum* و *Phaeomoniella chlamydospora* به خوبی در محل مایه‌زنی شده فعالیت نموده و قادرند به سمت بالا و پایین این محل نیز پیشرفت کند و علائم قهوه‌ای شدن آوندها را به خوبی نشان دادند (شکل۳–E) و از نواحی تغییر رنگ یافته نیز جدایه‌های مربوطه مجددا جداسازی و شناسایی گردید.

بحث

در حال حاضر گرچه مطالعات زیادی روی بیماری اسکای مو در نقاط مختلف جهان صورت گرفته است ولی هنوز سبب‌شناسی آن به طور کامل روشن و مشخص نشده است. یکی از دلایل پیچیدگی این بیماری عوامل مختلف قارچی است که به عنوان عامل بیماری جداسازی می‌شوند. چرا که گونه‌های مختلفی از بازیدیومیست‌ها از جمله *Fomitiporia punctata*، آسکومیستها مانند *Eutypa lata* و قارچهای میتوسپوری مانند گونه‌های

Archive of SID

www.SID.ir

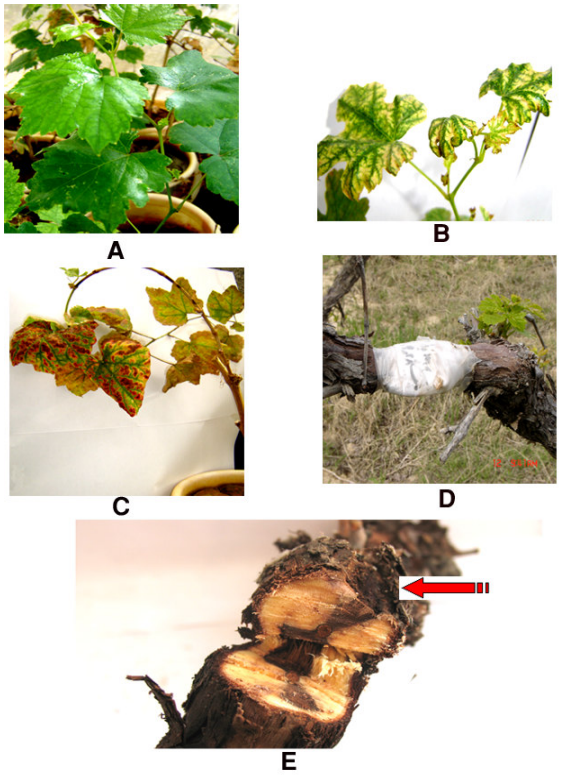


شکل ۲. A، C و E خصوصیات *Phaeoacremonium aleophilum*؛ پرگنه ۱٦روزه قارچ روی PDA، C، کنیدیوم؛ E، خصوصیات میکروسکوپی (a: فیالید نوع اول. b: فیالید نوع دوم.c: فیالید نوع سوم. d: کنیدیوفور). B، D و F خصوصیات *Phaeomoniella chlamydospora*؛B، پرگنه ۲۲ روزه قارچ روی PDA؛ D، کنیدیوم؛ F، خصوصیات میکروسکوپی و رشد مخمری قارچ (a رشد مخمری پرگنه ۱٦روزه روی PDA . b: کنیدیوفور .c ساختارهای کلامیدوسپور مانند. d تشکیل پیکنیدیوم روی آب–آگار پس از ۲۰ روز).

Fig. 2. *Phaeoacremonium aleophilum* (A, C, F) 16-day-old colony on PDA (A), Conidia (C), Microscopic structures on MEA, type I phialide (a), type II phialide (b), type III phialide(c) and conidiophore (d). *Phaeomoniella chlamydospora* (B,D,E) 20-day-old colony on PDA (B), Conidia (D), F (yeast–like growth of 16-day-old colony on PDA , Conidiophores (b), Chlamydospore like structures (c), Pycnidium produced on WA after 20 days (d).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۳- علائم بیماری حاصل از مایه‌زنی با *Phaeoacremonium aleophilum* در گلخانه (B و C) و مزرعه (E). A گیاه شاهد. B علائم زردی بین رگبرگها در گیاه مایه‌زنی شده پس از نه ماه C تغییر رنگ بین رگبرگها از زردی به زرد قهوه‌ای و قرمز. D مایه‌زنی شاخه‌ها در شرایط مزرعه. E علائم تغییر رنگ چوب در شاخه مایه‌زنی شده پس از حدود شش ماه در شرایط مزرعه (محل مایه زنی شده با پیکان مشخص شده است).

Fig. 3. Disease symptoms of grapevine inoculated with *Phaeoacremonium aleophilum* in greenhouse (C and B) and field (E). Healthy plant (A), Symptoms on leaves consisted of light green or chlorotic, round or irregular spots in midvein after nine months(B), Yellow-brown and red-brown or tiger-stripes patterns on leaves of inoculated plant (C), Method of inoculation on branches (D), Wood discoloration in inoculated branches after six months, the arrow showing the site of inoculation (E).

Archive

www.SID.ir

Phaeoacremonium, و *Phaeomoniella chlamydospora* و عوامل متعدد دیگری در بروز این بیماری نقش دارند (Graniti *et al*. 2000). در حال حاضر این بیماری از نقاط مختلف کشت مو در جهان از جمله ایتالیا ، فرانسه (Larignon & Dubos 1997) آمریکا، استرالیا، آفریقای جنوبی و سایر کشورهایی که دارای باغات انگور هستند گزارش شده است (Morton 1999). نتایج این بررسی نشان داد که بیماری اسکا در نقاط مختلف استان فارس (نقاطی با آب و هوای نسبتاً گرم مانند کوار و شیراز تا نقاطی با آب و هوای خنک مانند آباده ، بوانات و اقلید) وجود دارد و شاید بتوان این طور بیان نمود که بیماری اسکا در استان فارس یک بیماری جدی و در حال پیشرفت است که اختصاص به رقم خاصی ندارد و کم و بیش در تمام باغات استان (با شدت های مختلف) مشاهده می گردد. مطالعات انجام شده نیز حاکی از آن است که شدت این بیماری با سن درختان باغ رابطه مستقیمی دارد و در باغاتی با سن بالای ۲۰ سال که مراقبت چندانی نیز نمی کنند اهمیت بسیار بالایی دارد در حالی که رابطه ای بین این بیماری و رقم های کشت شده در هر منطقه وجود ندارد (Reisenzein *et al*. 2000) . گرچه بیماری اسکا دارای علائم متنوعی مانند کاهش رشد، زرد شدن برگها و کوچک شدن آنها، زوال شاخه ها و تغییر رنگ بافت آوندها به صورت ایجاد رگه های قهوه ای یا سیاه است (Khan *et al*. 2000) ولی بروز و ثبات این علائم متفاوت است به گونه ای که علائم مربوط به چوب و تنه نسبت به علائم برگی از اهمیت و ثبات بالاتری برخوردارند چون علائم برگی از سالی به سال دیگر حتی بر روی یک درخت متفاوت است (Mugnai *et al*. 1999). در بیشتر باغات آلوده علام برگی و علائم تغییر رنگ آوندها مشاهده گردید ولی در مواردی نیز درختانی که به ظاهر دارای برگهایی سالم و فاقد علائم برگی بودند در برش عرضی تنه علائم تغییر رنگ آوندی را به خوبی نشان می‌دادند که این امر در اواسط فصل بهار تا اوایل تابستان قابل مشاهده است و این خود نشان دهنده ثبات علائم داخلی (ایجاد رگه های قهوه‌ای یا سیاه در تنه یا پوسیدگی‌های مرکزی) نسبت به علائم بیرونی (تغییر رنگ برگها و زوال شاخه‌ها) است از طرفی می توان علائم برگی را نتیجه اختلال و تغییر رنگ در آوندها دانست و در نتیجه بروز علائم برگی نیاز به پیشرفت علائم در تنه دارد. در مواردی وجود لکه‌های قهوه‌ای یا ارغوانی روی حبه‌های انگور به عنوان یکی از علائم مشخصه بیماری

Archive of SID

www.SID.ir

اسکا گزارش شده است (Mugnai *et al*.) ولی در باغات نمونه‌برداری شده طی این مطالعه چنین علائمی به‌طور مشخص در درختان آلوده مشاهده نگردید.

در بعضی از کشورها کشت مو از اهمیت بالایی برخوردار است و از آنجایی که بیماری اسکا یکی از بیماری‌های مهم زوال مو شناخته می‌شود مطالعات زیادی در خصوص شناسایی عامل یا عوامل بیماری و کنترل آن صورت گرفته است. مطالعات انجام شده در مورد تعیین عامل بیماری نشان می‌دهد که دو جنس *Phaeoacremonium* و *Phaeomoniella* از اهمیت بالایی برخودارند که در این میان دو گونه *Phaeoacremonium aleophilum* و *Phaeomoniella chlamydospora* قادر به ایجاد تغییر رنگ آوندی در تمام ارقام مو بوده و در درختان آلوده از حاشیه لکه‌های ایجاد شده در تنه قابل جداسازی هستند (Feliciano *et al*. 2004). کارهای انجام شده روی کشت بافت مو و بررسی بیماری‌زایی نشان داده است که عوامل قارچی مولد بیماری اسکا باعث آلوده شدن سلول‌های پارانشیمی چوب شده که در مرحله بعد این سلولها در آوندهای مجاور تولید تیلوز می‌کنند. ریسه‌ها نیز قادرند به آوندها نفوذ کنند و در این ناحیه فعالیت نمایند و باعث قهوه‌ای شدن سلول‌ها و آوندهای آلوده شوند (Pascoe & Cottral 2000). در جداسازی عامل بیماری‌زا از درختان مو دارای علائم بیماری قارچهای مختلفی مانند (Phillips 2002 *Botryosphaeria* spp., Urbez-Torres *et al*. 2006) *Acremonium* sp., (Mostert *et al*. 2006) گونه‌های مختلف *Phaeoacremonium* (Crous & Gams 2000 ، Mugnai *et al*. 1999) *Phaeomoniella chlamydospora*، (Sweetingham 1983, Rego *et al*. 2000) *Cylindrocarpon destructants* و (Scheck *et al*. 1998a) *C. obtusisporum* و *Fumitiporia punctata* (Larignon & Dubos 1997) *Eutypa lata* جداسازی و گزارش شده است. مطالعات در این زمینه نشان می‌دهد که چندین گونه از *Phaeoacremonium* از جمله *P. rubrigenum*, *P. angustius* *P. australiense* *P. austroafricanum* , *P. parasiticum* *P. mortoniae*, *P. viticola* *P. subulatum* و *P. iranianum* از درختان مو جداسازی گردیده است (Mostert *et al*. 2006) که در این میان *P. aleophilum* از فراوانی و گستردگی بیشتری نسبت به بقیه گونه‌ها برخوردار بوده است (Mugnai *et al*. 1999, Scheck *et al*. 1998c, Larignon & Dubos, 1997) در این مطالعه نیز گرچه از درختان آلوده قارچهای *Diplodia* sp., *Phaemoniella chlamydospora*, *Nattrassia*

Archive of SID

www.SID.ir

sp., *Phoma* sp. و *P. aleophilum* جداسازی و شناسایی گردید ولی از بیشتر نمونه‌های مورد بررسی *Phaeomoniella chlamydospora* و sp.*Phaeoacremonium* جداسازی گردید و در این میان با توجه به تولید رنگ زرد رنگ روی محیط PDA حاوی تتراسیکلین و تعیین خصوصیات میکروسکوپی و ماکروسکوپی طبق کلیدهای موجود مشخص شد که گونه *P. aleophilum* نسبت به بقیه جدایه‌ها از فراوانی و پراکندگی بیشتری برخوردار است. آزمایشاتی که توسط لاریگنون و اسکالن انجام شد نشان داد که اسپور گونه‌های *Phaeoacremonium* و *Phaeomoniella chlamydospora* در باغات مو وجود دارند (Larignon & Dubos. 2000, Eskalen & Gubler 2001) در کالیفرنیا نیز بررسی‌ها در این زمینه نشان داده است که اسپورهای *P. inflatipes*، *P. aleophilum* و *Phaeomoniella chlamydospora* به صورت هوازاد در طول زمستان و بهار منتشر می‌شوند و در این میان بارندگی‌های اوایل پاییز و اواخر زمستان از اهمیت خاصی برخودارند (Eskalen & Gubler 2001). از طرفی نتایج آزمایشات نشان داده است که *P.aleophilum* یک بیمارگر خاکزاد است که حتی در آبهای راکد پای درختان نیز وجود دارد (Scheck *et al*. 1998a) در حالی *Phaeomoniella chlamydospora* بیمارگری است که بیشتر از نواحی هرس شده وارد می‌شود که در طول فصل هرس آلودگی با این گونه افزایش می‌یابد (Gubler *et al*. 2001) . با توجه به مطالب بالا، نوع آبیاری، فصل و میزان هرس در گسترش و پراکندگی گونه‌های اخیر از یک باغ به باغ دیگر بسیار حائز اهمیت است. گونه *P. aleophilum* دارای فرم جنسی *Togninia minima* (Calosphaeriales) است که در بعضی از مناطق با وجود دو تیپ آمیزشی آن می‌توان آسکوکارپ‌های این جنس را روی موهای آلوده در باغ مشاهده نمود (Rooney *et al*. 2005). در این مطالعه با بررسی‌های انجام شده هیچ گونه اندام باردهی از این جنس روی تنه و شاخه‌های درختان آلوده مو مشاهده نگردید همچنین با انجام آزمون‌های مکمل سازی بین جدایه‌های *P. aleophilum* بدست آمده از باغات مختلف نیز آسکوکارپی تشکیل نگردید و از آنجایی که جهت تشکیل فرم جنسی این گونه نیاز به دو تیپ آمیزشی مخالف است می‌توان گفت که تمام این جدایه‌ها متعلق به یک تیپ آمیزشی می‌باشند.

نتایج حاصل از مایه‌زنی در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای نشان داد که گونه‌های

Archive of SID

www.SID.ir

P. aleophilum و *Phaeomoniella chlamydospora* قادرند در هر دو شرایط آزمایشی علائم بیماری را ایجاد نمایند که در شرایط گلخانه‌ای علائم برگی و در شرایط مزرعه‌ای علائم آوندی به خوبی مشاهده گردید. آزمایشات انجام شده توسط دیگر محققان نیز حاکی از بروز علائم برگی و آوندی در گیاهان مایه‌زنی شده پس از گذشت شش ماه است (Graniti *et al*. 2000).

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (91-88) متن انگلیسی مراجعه شود.

نشانی نگارندگان: حمید محمدی و ضیاءالدین بنی‌هاشمی، بخش گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

Archive of SID

www.SID.ir