بررسی پاتولوژیکی و فیزیولوژیکی *Nattrassia mangiferae* عامل زوال درختان سایه‌دار در شهر شیراز *

THE PATHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL STUDY OF *Nattrassia mangiferae* THE CAUSE OF SHADE TREES DECLINE IN SHIRAZ CITY

صمد جمالی و ضیاءالدین بنی هاشمی **[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۶/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۰/۲۳)

چکیده

از قسمت هوایی اکثر درختان زینتی در حال زوال، قارچی جدا شد که با توجه به بررسی‌های صورت گرفته روی خصوصیات ریخت شناسی، فرم یک *Nattrassia mangiferae* تشخیص داده شد. این بیمارگر از ۱۶ گونه گیاهی متعلق به ۱۶ خانواده گیاهی جداسازی گردید. شش گونه گیاهی شامل، اقاقیا، افرای شبه چناری، ازگیل ژاپنی، ماگنولیا، گندم و گیاه زینتی تاج خروس برای اولین بار در ایران به عنوان میزبان‌های این بیمارگر شناسایی شدند. بیماری‌زایی ۷۰ جدایه از این بیمارگر روی شاخه‌های بریده افرای شبه چناری، چنار، ماگنولیا، ازگیل ژاپنی، توت، نارون، سروناز شیراز، اقاقیا، نارنج، گردو و سیب در آزمایشگاه و مایه‌زنی مستقیم در گلخانه و طبیعت روی میزبان‌های مذکور به اثبات رسید. علائم بیماری روی شاخه‌های بریده به سه صورت؛ ایجاد شانکر، تشکیل پودر سیاه آرتروکنیدیومی متراکم و با تراکم کم دیده شد. روی شاخه‌های بریده آبدار قارچ ایجاد شانکر می‌نماید ولی پیشرفت قارچ آهسته و با میزان اسپورزایی کم همراه است. کمینه، بهینه و بیشینه درجه حرارت برای رشد روی محیط سیب زمینی دکستروز آگار، ۲۰- ۱۵، ۳۵-۳۰ و ۳۷- ۳۵ $^{\circ}C$ به ترتیب بود. در بررسی صورت گرفته برای تعیین میزان اسپورهای *N. mangiferae* در هوای شیراز، با استفاده از اسلایدهای میکروسکوپی چسبان و تشتک‌های پتری پلاستیکی روباز حاوی محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار به اضافه ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنومیل و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر PCNB، میزان اسپور ناچیز بود که تصور می‌رود به علت عدم تشکیل لایه اسپورزا در اکثر درختان باشد.

واژه‌های کلیدی: زوال درختان سایه‌دار، درختان زینتی ،*Hendersonula toruloidea* Natt. ، افرا شبه چناری.

---

*: بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول، ارائه شده به دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

**: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ziabani@shirazu.ac.ir

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استاد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

با توجه به اهمیت درختان زینتی، یکی از مهم‌ترین عوامل پژمردگی شاخه و زوال و مرگ درختان زینتی در شهر شیراز، قارچ *Nattrassia mangiferae* است. این قارچ اولین بار توسط *ناتراس* (Nattrass 1933) از درختان خزان‌دار جدا و به عنوان گونه جدید *Hendersonula toruloidea* Natt. توصیف شد. این قارچ از پا و ناخن‌های آلوده مهاجرین نواحی گرمسیری به کشور انگلستان (Gentles & Evans 1970)، از درختان سایه‌دار در سودان (Giha 1975)، عامل سرخشکیدگی و لکه برگی انبه در نیجریه (Pandey *et al* 1981)، شانکر طوقه و پژمردگی ناگهانی گیاه کائوچو در سریلانکا (Jayasinghe and Silva 1994) و به عنوان مهم‌ترین عامل پوساننده ریشه و ساقه کاساووا در آفریقا (Misikita *et al*. 2005) گزارش شده است. در ایران از درختان گردو، سیب و گلابی در شیراز (Banihashemi 1983)، از درختان سرو زربین و سرو نقره‌ای ضعیف شده در اثر آسیب حشرات جنگل در استان گلستان (Rahnama 1996)، از درختان مرکبات، توت، اکالیپتوس، گردو، نارون و ابریشم در خوزستان (Heydarian & Minasian 1995) و از توت، ابریشم، گردو، اکالیپتوس، نارنج، انار، لیموترش و ازگیل در شهرستان جهرم نیز گزارش شده است (Ayazpour & Salehi 2004). *ساتون و دایکو* (Sutton & Dyko 1989) در سال ۱۹۸۹ با تجدید نظر جالبی که روی تاکسونومی *Hendersonula* نمودند، به علت سه تفاوت اساسی عامل این بیماری را از جنس مذکور متمایز کرده و نام جدید *Nattrassia* برای آن پیشنهاد نمودند.

روش بررسی

طی سال‌های ۱۳۸۴-۱۳۸۱ ضمن بازدید از مناطق مختلف شهرستان شیراز، نمونه‌هایی از قسمت‌های مختلف ریشه و طوقه، سرشاخه‌ها، شانکرهای موجود در تنه، شاخه‌ها و شکوفه‌های در حال خشکیدن جمع‌آوری و جهت جداسازی بیمارگرهای احتمالی از بافت‌های آلوده، قطعاتی به اندازه ۴-۲ میلی‌متر پس از ضدعفونی سطحی با محلول نیم درصد هیپوکلریت سدیم تجاری به محیط‌های غذایی سیب‌زمینی- دکستروز آگار (PDA) و عصاره مالت آگار (MEA) انتقال داده شدند. خالص‌سازی به روش نوک ریسه و تک اسپور انجام شد. جهت تشکیل پیکنیدیوم عامل بیماری، سیخک‌های سیب درختی، بید، افرای شبه چناری، عرعر و ساقه‌های پنبه بعد از شستشو با مایع ظرفشویی به قطعات نیم تا یک سانتی‌متر تقسیم گردیدند و در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری قرار داده شدند. بعد از اتوکلاو در دمای ۱۲۱°C و فشار یک اتمسفر در ۳ روز متوالی به مدت ۳۰ دقیقه، در هر ارلن پنج قرص عامل بیماری به قطر یک سانتی‌متر از حاشیه پرگنه در حال رشد فعال قرار داده شد. در روش دیگر، قطعاتی از ترکه‌های درختان مذکور به اندازه ۳-۴ cm بعد از سترون کردن، در تشتک‌های پتری حاوی PDA قرار داده شدند و سپس به وسیله قارچ، مایه‌زنی انجام شد هم‌چنین شاخه‌های درختان مذکور به قطرهای متفاوت (۴-۱ سانتی‌متر) و طول ۲۰ سانتی‌متر بعد از شستشو با مایع ظرفشویی و ضدعفونی با اتیل الکل ۹۶ درصد و عبور سریع از روی شعله مایه‌زنی و در دماهای مختلف ۲۵، ۳۰ و ۳۵ °C قرار گرفتند. جهت ردیابی اسپورهای *N. mangiferae* در اتمسفر شهر شیراز از تشتک‌های پتری ۸ سانتی‌متری حاوی PDA و ۱۰۰ میلی‌گرم PCNB و ۱۰۰ میلی‌گرم پودر ۵۰ درصد بنومیل تجارتی در لیتر استفاده شد. تشتک‌های پتری به درختان در

Archive of SID

www.SID.ir

نواحی مختلف شهر شیراز متصل و بعد از ۴۸ ساعت جمع‌آوری گردید.

جهت اثبات بیماری‌زایی، شاخه‌هایی به قطر ۱ تا ۳ و طول ۳۰ cm از هر میزبان تهیه، بعد از شستشو و ضدعفونی، دیسکی از پوست به قطر ۵ mm با کمک چوب‌پنبه سوراخ کن برداشته و مایه‌زنی با استفاده از قرص‌های PDA از حاشیه پرگنه‌های در حال رشد فعال انجام گردید. شاخه‌ها بعد از مایه‌زنی در کیسه‌های پلاستیکی پیچیده و به مدت دو هفته در دمای ۳۰°C قرار داده شدند. در طبیعت مایه‌زنی با ۵ جدایه و در نواحی ۳۰cm تا ۴۰ از انتهای شاخه و قسمت‌های دیگر شاخه انجام شد. در این ناحیه محل مناسب با اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی سطحی و با چوب پنبه سوراخ کن دیسکی از پوست برداشته شد. مایه‌زنی مانند شاخه‌های بریده شده انجام شد.

نتایج و بحث

از قسمت هوایی اکثر درختان زینتی در حال زوال قارچی جدا شد که با توجه به بررسی‌های صورت گرفته درباره خصوصیات مورفولوژیک از جمله مرفولوژی پرگنه‌ها و اندازه‌گیری‌های انجام شده در مورد پیکنیدیوم‌ها(۲mm)، پیکنیدیوسپورها(۵/۲۵µm × ۱۳/۲۲)، یاخته‌های کنیدیوم‌زا که در شرایط آزمایشگاه تشکیل گردیدند و هم‌چنین اندازه‌گیری آرتروکیندیوم‌ها(۳/۷۵ µm × ۸/۳۴) ، بیمارگر مذکور فرم یک قارچ ناقص پیکنیدیوم‌دار *Nattrassia mangiferae* (Sutton and Dyko 1980) تعیین گردید(Moor 1988)، که دارای مرحله آرتروکنیدیومی به نام *Scytalidium dimidiatum* است (شکل ۱). فرم یک دارای رشد سریع بوده و تولید پیکنیدیوم می‌کند، ضمن اینکه فرم دو دارای رشد کم و پرگنه‌ها دارای نواحی متحدالمرکز و فرم سه، فرم پیکنیدیومی نیست (Moor 1988).

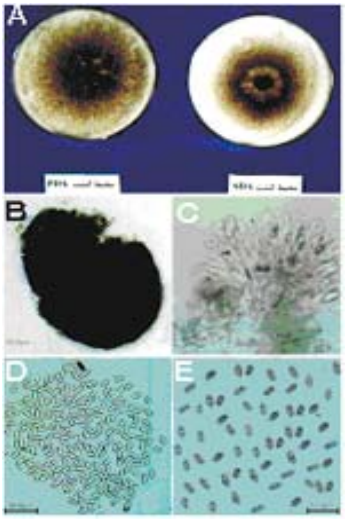
علائم بیماری به صورت زوال و پژمردگی، سبز خشکی برگ‌ها (شکل ۲) و توسعه به سمت سایر شاخه‌ها و در نهایت تنه دیده می‌شود (شکل ۲). در مقاطع عرضی و طولی، بخش‌های آلوده قهوه‌ای تیره و سایر بخش‌ها طبیعی به نظر می‌رسند (شکل ۲). در نهایت یک لایهٔ دوده‌ای از آرتروکنیدیوم‌ها بین اپیدرم و پوست تشکیل می‌شود (شکل ۲) که از شاخص‌ترین علائم آن است. در بررسی‌های صورت گرفته این حالت اخیر در اغلب درختان کمتر دیده می‌شود و فقط در چندین درخت افرای شبه چناری دیده شد. علائم بیماری روی ۱۶ گونه گیاهی متعلق به۱۶ خانواده گیاهی شامل افرای شبه چناری(*Acer pseudoplatanus**)، چنار(*Platanus orientalis*)، *ماگنولیا*(*Magnolia grandiflora**)، ازگیل ژاپنی(*Eryobotria japonicae**)، توت(*Morus alba*)، نارون(*Ulmus procera*)، سرو ناز شیراز(*Cupressus sempervirens*. var. *fastigiata*)، اقاقیا(*Robinia pseudacacia*)، اکالیپتوس(*Eucalyptus camaldulensis*)، نارنج(*Citrus autrantium*)، گردو(*Juglans regia*) و سیب(*Malus communis*)، در شهرستان شیراز و حومه مشاهده گردید. پنج گونه گیاهی شامل، اقاقیا، افرای شبه چناری، ازگیل ژاپنی، ماگنولیا و گیاه زینتی تاج خروس برای اولین بار در ایران به عنوان میزبان‌های این بیمارگر شناسایی شدند.

در مورد بیماری‌زایی، واکنش شاخه‌های درختان زینتی مورد استفاده به جدایه‌های مورد آزمایش به سه شکل ظاهر شدند.

در شکل اول؛ تشکیل یک لایه دوده‌ای متراکم از آرتروکنیدیوم‌ها بین اپیدرم و پوست همراه با پیشروی سریع قارچ(شاخه‌های چنار) (شکل ۳ الف). در شکل

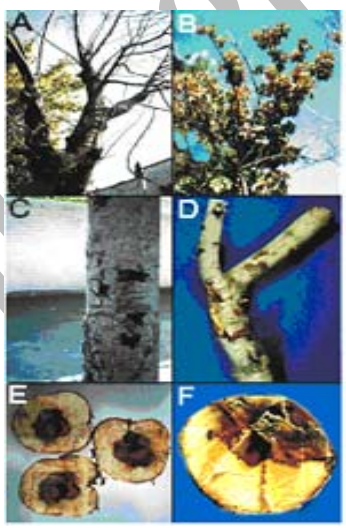
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱. A- رشد *Nattrassia mangiferae* روی محیط کشت‌های PDA و SDA- B- پیکنیدیوم در حال متلاشی شدن و پیکنیدیوسپورهای بالغ-*N. mangifera*- C- یاخته‌های کنیدیوم زای *N. mangifera*- D- اسپورهای تک یاختـه‌ای نـا بـالغ *N. mangifera* E – اسـپورهای سـه یاخته‌ای بالغ

Fig. 1. The growth of *Nattrassia mangiferae* on PDA and SDA media (A); pycnidium and matured spores of *N. mangiferae*(B); conidiogenous cells of *N. mangiferae*(C); immature spores(D); 2-septate matured spores



شکل ۲. A و B – سبز خشکی برگ‌ها و سرخشکیدگی شاخه‌های انتهایی در افرای شبه چناری و توسعه به سمت سایر شاخه‌ها C – علائـم روی تنه به صورت تشکیل پودر آرتروکنیدیومی D – خشکیدگی شاخه‌هـای درخـت ماگنولیـا E و F-علائـم بیمـاری در مقطـع عرضـی شاخه‌های سرو ناز و نارون.

Fig 2. Decline and top mortality in sycamor and developed on the other twigs(A,B); symptoms on trunk(C); dead twig in Blue Bay Magnolia(D); symptoms of disease in cross-section of cypress and elm(E,F)

Archive of SID
www.SID.ir

ج ب الف

شکل ۳. تشکیل پودر آرتروکنیدیومی متراکم(الف)، ایجاد شانکر(ب) و تشکیل پودر ارتروکنیدیومی با تراکم کمتر(ج).

Fig. 3. Disease symptoms on the detached stems: canker, dense and thin sooty layer of arthrospores.

دوم؛ ایجاد شانکر عمیق در پوست و قارچ نسبت به شکل اول پیشروی کندتری داشت(شاخه‌های عرعر و زبان گنجشک) (شکل ۳ ب). در شکل سوم؛ تشکیل یک لایه دوده‌ای از آرتروکنیدیوم بین پوست و اپیدرم با تراکم کمتری نسبت به شکل اول به همراه ایجاد شانکر در پوست(شاخه‌های افرای شبه چناری، نارون، توت و اقاقیا) (شکل ۳ ج).

بنابراین اختلاف بسیار کمی از نظر بیماری‌زایی بین جدایه‌ها وجود دارد ولی میزبان‌ها نقش مهمی در پیشرفت و بیماری‌زایی این قارچ ایفا می‌کنند. دمای رشد کمینه، بهینه و بیشنه جدایه‌های این بیمارگر روی محیط کشت سیب زمینی – دکستروز آگار به ترتیب ۲۰-۱۵، ۳۵-۳۰ و ۳۵-۳۷°C بود.

در تعیین وجود اسپورهای *N.mangiferae* در هوای شیراز، بیشترین پرگنه‌های به دست آمده در ماه‌های مرداد و شهریور مربوط به قارچ آلترناریا بود، به طوری که در مردادماه از ۷۷ پرگنه به دست آمده ۶۹ پرگنه مربوط به *Alternaria* sp. و فقط یک پرگنه از *N. mangiferae* به دست آمد. در ماه شهریور نیز از ۱۹۵ پرگنه به دست آمده، ۱۶۳ پرگنه مربوط به *Alternaria* sp. و هیچ‌گونه پرگنه‌ای از *N. mangiferae* به دست نیامد. بنابراین تصور می‌رود که به علت عدم تشکیل لایه اسپورزا موقع نمونه‌برداری در اکثر درختان باشد.

با توجه به خصوصیات به دست آمده فرم یک این قارچ در شیراز وجود دارد و فرم ۲ و ۳ تاکنون مشاهده نشده است. لازم به ذکر است که هر ۳ فرم قادر به ایجاد بیماری در انسان بوده‌اند ولی بیشترین گزارش‌ها مربوط به فرم ۳ بوده است (Sigler *et al*. 1997).

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (36-35) متن انگلیسی مراجعه شود.

Archive of SID

www.SID.ir