

بررسی علل زوال درختان چنار در شیراز*

THE PATHOLOGICAL STUDY OF PLANE TREES DECLINE IN SHIRAZ CITY

صمد جمالی و ضیاءالدین بنی هاشمی**^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۰/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۹/۲۳)

چکیده

زوال درختان چنار سال‌هاست که به طور گسترده در شیراز و دیگر نقاط کشور وجود دارد. از ۵۰ اصله درخت چنار با علائم زوال و سرخشیدگی، از ۴۱ درخت قارچ‌های *Cytospora* (۴۲/۸۵٪)، *Alternaria* (۱۸/۹٪)، *Aspergillus* (۱۲/۷۱٪)، *Natrassia mangiferae* (۳/۲۲٪)، *Penicillium* (۳/۰۵٪)، *Rhizopus* (۰/۷٪)، *Helminthosporium* (۰/۲۴٪)، *Chaetomium* (۰/۲۱٪)، *Coniothyrium* (۰/۲۱٪) و *Ulocladium* (۰/۰۷٪) جداسازی شد. در این تحقیق از شاخه‌های بریده چنار برای اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های قارچی که درصد فراوانی بالایی داشتند استفاده شد. به استثنای *Natrassia mangiferae* و چند جدایه *Cytospora* دیگر جدایه‌های مایه‌زنی شده هیچکدام بیماری‌زا نبودند. مایه‌زنی ۱۰ جدایه بیماری‌زای *Cytospora* به شاخه‌های بریده سبب، گردو، نارنج، ارغوان، توت سفید، کاج، افراش شبه چناری، زبان گنجشک و چنار صورت گرفت که تنها یک جدایه روی توت و پنج جدایه روی ارغوان علائم بسیار جزئی ایجاد کردند. براساس خصوصیات ریخت‌شناسی، جدایه‌های سیتوسپورا از درختان چنار در شیراز گونه *Cytospora theryana* تشخیص داده شدند. در این گونه دو گروه مورفولوژیکی *Cytospora* و *Cytophoma* تشخیص داده شد. نتایج حاصله از آزمایشات صورت گرفته روی قابلیت هدایت الکتریکی (EC) عصاره اشباع، پ هاش و بافت خاک تا عمق ۴۰ سانتی‌متری خاک اطراف ۴۰ نمونه درختان چنار سالم و دارای علائم زوال نشان داد که بافت خاک درختان سالم و در حال زوال یکسان، EC بین ۲/۴-۰/۲ ds/m و پ هاش خاک درختان سالم و درختان دارای علائم زوال نیز قلیایی و بین ۸/۷-۸/۱۶ بود. با توجه به نتایج فوق قارچ‌های جدا شده نقشی در زوال نداشته و تصور می‌رود که با توجه به پ هاش بالای خاک، کمبود عناصر غذایی قابل جذب نقش مهمی در زوال درختان چنار در شهرستان شیراز دارد.

واژه‌های کلیدی: زوال درختان چنار، *Cytospora*، شیراز

* بخشی از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد نگارنده اول، ارائه شده به دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

** مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: zia1937@yahoo.com

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

مقدمه

Valsaceae، راسته Diaporthales و شاخه Ascomycota می‌باشند. با این وجود برای بسیاری از شبه گونه‌های گزارش شده از شبه جنس *Cytospora* تلئومورفی شناخته نشده است (Adams et al. 2005). تاکنون بررسی کاملی از بیماری‌زایی گونه‌های مختلف این شبه جنس روی درختان چنار در شیراز صورت نگرفته و تنها احمدی و بنی‌هاشمی شبه گونه *C. platani* را از درختان چنار در شیراز جداسازی نموده‌اند. زوال درختان چنار در شهر شیراز سال‌ها است که به صورت زردی، علائم کمبود آهن و خشکیدگی سرشاخه‌ها و شاخه‌های فرعی وجود داشته و تحقیقات گسترده‌ای در خصوص نقش قارچ‌ها در زوال درختان مذکور صورت نگرفته است. هدف از انجام این پژوهش نقش عوامل زنده به خصوص قارچ‌ها در زوال درختان مذکور می‌باشد.

روش بررسی

به منظور نمونه‌گیری از درختان چنار مناطق مختلف شیراز، نمونه‌هایی از قسمت‌های مختلف سرشاخه‌ها، شانکرهای موجود در تنه، شاخه‌ها و جمع‌آوری و با قرار دادن در کیسه‌های پلاستیکی مجزا درون یخدان همراه با ثبت مشخصات کامل نمونه به آزمایشگاه منتقل شدند. برای جداسازی بیمارگرهای احتمالی از بافت‌های آلوده، شاخه‌هایی که دارای علائم بارز سرخشکیدگی یا شانکر بودند انتخاب، پس از شستشو با آب، قطعاتی با اندازه ۲-۴ میلی‌متر از محل بین نسوج آلوده و سالم برداشته و پس از ضدعفونی سطحی با محلول نیم درصد هیپوکلریت سدیم (محلول ۱۰ درصد مایع تجارتي سفیدکننده موجود در بازار) به محیط‌های غذایی سیب‌زمینی - دکستروز آگار (PDA) و عصاره‌ی مالت آگار انتقال داده شدند. برای جداسازی از پیکنیدیوم‌های تشکیل شده روی سطح

درخت چنار از جمله درختان سردسیری است که در بسیاری از شهرهای ایران به عنوان درخت زینتی در معابر و منازل کاشته می‌شود. این درخت هم‌چنین به عنوان یک درخت صنعتی جهت استفاده از چوب آن به صورت انبوه در برخی استان‌های کشور کشت می‌شود. چنار درختی چند ساله و خزاندار از نهان‌دانگان و از خانواده Platanaceae و جنس *Platanus* می‌باشد. تکثیر چنار به روش غیرجنسی و از راه قلمه صورت می‌گیرد اگر چه در طبیعت از راه تکثیر با بذر به بقای خود ادامه می‌دهد (Motaghi 1985). در شیراز درختان چنار از حمله آفات و بیماری‌ها مصون نبوده و پژمردگی شاخه، زوال و مرگ درختان چنار سال‌هاست که وجود دارد. از اکثر درختان چنار در حال زوال در شیراز عموماً علائم *Cytospora* با تولید فتیله‌های نارنجی ظاهر می‌شود.

شبه گونه‌های شبه جنس *Cytospora* و تلئومورف‌های وابسته به آن یکی از مهم‌ترین عوامل ایجادکننده شانکر و زوال درختان مثمر و غیرمثمر، برخی گیاهان علفی و ندرتاً برخی گیاهان تک‌لپه در سرتاسر دنیا هستند (Biggs 1989, Christensen 1940). حدود ۵۰۰ شبه گونه در این شبه جنس به عنوان عوامل بیماری‌زا روی گیاهان مختلف گزارش گردیده است (Grove 1935, Gutner 1935, Gvritshvili 1982). سینکلیر و همکاران (Sinclair et al. 1987) بیش از ۸۵ گونه میزبان گیاهی حساس به این گروه از قارچ‌ها را فهرست نموده‌اند. خسارت اقتصادی ناشی از این قارچ‌ها در برخی شرایط بسیار زیاد است. شبه‌گونه‌های شبه جنس *Cytospora* آنامورف‌های جنس‌های، *Leucostoma* (Nitschke) Höhn. *Valseutypella* Höhn. *Valsella* Fuckel. Höhn. و *Valsa* Fr. متعلق به تیره

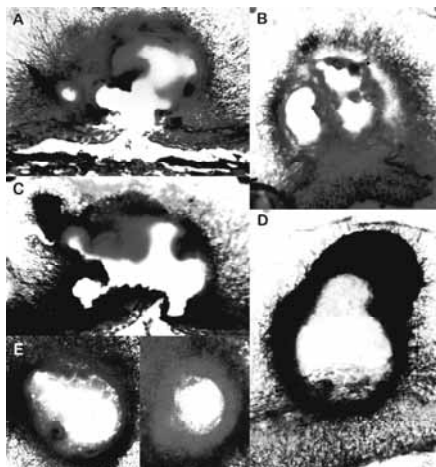
شده درختانی چون نارنج، ارغوان، زبان گنجشک، کاج، افرا چناری، توت سفید، چنار، گردو و سیب استفاده شد. برای تعیین pH، EC و بافت خاک درختان چنار، ۴۰ درخت چنار مسن در سطح شهرستان شیراز انتخاب شد که ۲۰ اصله درخت چنار دارای علائم زوال و سرخشکیدگی و ۲۰ اصله به ظاهر سالم و بدون علائم زوال و سرخشکیدگی بودند. تعیین بافت خاک به روش هیدرومتر (Gee and Bauder, 1986)، EC خاک (Rhoades, 1996) و pH خاک درختان چنار (Thomas, 1996) برای کلیه ۴۰ نمونه خاک انجام شد.

نتایج و بحث

پرگنه‌های سیتوسپورا، به رنگ سفید و به صورت ریشه‌های کم پشت و چسبیده روی محیط PDA پس از دو روز نمایان شدند. پس از پنج روز استروما در تمام جدایه‌ها روی محیط PDA ظاهر شد. میسلیم‌ها منشعب، مدفون و دیواره‌دار، به رنگ قهوه‌ای روشن تا شفاف، کنیدیوم‌ها استروماتیک و مجزا، در زیر اپیدرم به شکل مخروطی تشکیل می‌شوند و با شکافی که در سطح پوست ایجاد می‌کنند به خارج راه پیدا می‌کنند. میانگین طول کنیدیوفورها ۱۲ میکرومتر و تعداد حجرات استروما بین یک تا چند حجره و پیکنیدیوسپورها دارای میانگینی به طول ۵ و عرض ۱/۱ میکرومتر بودند. براساس خصوصیات ریخت‌شناسی، جدایه‌های سیتوسپورا از درختان چنار در شیراز گونه *C. theryana* و براساس تعداد حجرات استروما دو گروه مرفولوژیکی *Cytospora* و *Cytophoma* تشخیص داده شد (شکل ۱). واکنش شاخه‌های مایه‌زنی شده با جدایه‌های سیتوسپورا و تأثیر قارچ روی آنها از نظر شدت بیماری‌زایی و حساسیت میزبان به این صورت بود که از ۴۰ جدایه موجود تنها

شاخه‌ها، تنه و طوقه درختان چنار، ابتدا فتیله را کاملاً شستشو داده و پس از ضدعفونی با اتیل الکل ۹۶ درصد قطعاتی از آن فتیله را برداشته در چند میلی‌لیتر آب مقطر سترون حل کرده، سپس سوسپانسیون به دست آمده روی محیط کشت آب آگار (WA) با یک میله شیشه‌ای L شکل پخش گردید. در مواردی که پیکنیدیوم عاری از فتیله بود، نمونه‌ها بعد از شستشو، در تشتک محتوی یک کاغذ صافی مرطوب و یک لام برای مدت چند ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند تا پیکنیدیوسپورهای آن در اثر جذب رطوبت از دهانه پیکنیدیوم خارج و آنگاه سوسپانسیون تهیه گردید. خالص‌سازی به دو روش نوک ریشه و تک اسپور صورت گرفت.

در بررسی‌های میکروسکوپی ضمن تعیین اندازه اسپور در جدایه‌های این قارچ، برای شناسایی و بررسی ساختمان داخلی استروما و هم‌چنین برای تشخیص ویژگی کنیدیوفورها، با اسکالپل یک مربع کوچک از پوست همراه با استرومای قارچ جدا و در سری‌های مختلف بوتانل آگیری شد و پس از ثابت شدن در پارافین، به وسیله دستگاه میکروتوم دوار مدل کامبریج برش‌هایی به ضخامت ۱۸ میکرومتر از استرومای حاوی پیکنیدیوم گرفته شد و پس از رنگ‌آمیزی با اسید فوشین و فست گرین نحوه انشعاب کنیدیوفورها مشاهده و طول آنها اندازه‌گیری شد. برای اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های قارچی مختلف به دست آمده از درختان چنار با درصد فراوانی بالا (سیتوسپورا، آلترناریا، اسپرژیلوس، پنسیلیوم، ناتراسیا و ریزوپوس) از شاخه‌های بریده چنار برای به حداقل رساندن دوره کمون استفاده شد. برای اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های سیتوسپورا در شرایط طبیعی نیز، از درختان چنار و ارغوان جهت مایه‌زنی استفاده گردید. جهت تعیین دامنه میزبانی، از ده جدایه قارچ سیتوسپورا جهت مایه‌زنی شاخه‌های بریده



شکل ۱. ساختار داخلی استروما در جدایه‌های سیتوسپورا (اشکال A, B, C مربوط به گروه مورفولوژیکی *Cytospora* (چند حجره‌ای) و اشکال D, E مربوط به گروه مورفولوژیکی *Cytophoma* (تک حجره‌ای))

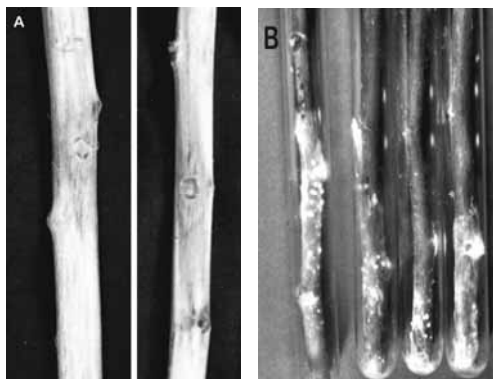
Fig. 1. structural stroma in strains of *Cytospora*.

هیچ‌کدام از جدایه‌ها قادر به ایجاد علائم شانکر و یا تولید پیکنیدیوم روی درختان سالم و شاداب چنار بعد از ۲ سال نبودند و تمام درختان مایه‌زنی شده با ایجاد پینه قسمت‌های زخم شده را ترمیم کرده بودند. جدایه‌های بیماری‌زا روی شاخه‌های بریده شده ارغوان و توت هر کدام به طور جداگانه به درختان ارغوان و توت سالم مایه‌زنی شدند ولی هیچ‌کدام قادر به ایجاد علائم شانکر و تولید پیکنیدیوم روی درختان سالم ارغوان و توت نبودند. لذا علت اصلی و اولیه زوال درختان چنار در شیراز قارچ *Cytospora* نیست.

در اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های قارچی درختان چنار که درصد فراوانی بالا داشتند (نمودار ۱) به استثنای *Nattrassia mangiferae* (شکل ۳) دیگر جدایه‌های مایه‌زنی شده به شاخه‌های بریده چنار هیچ‌کدام بیماری‌زا نبودند، ولی با توجه به این که از ۵۰ اصله درخت چنار در حال زوال و سرخشکیدگی تنها از ۱۱ مورد گونه *N. mangiferae* جدا شد، لذا مشکل اصلی و اولیه زوال و سرخشکیدگی درختان چنار در شیراز این

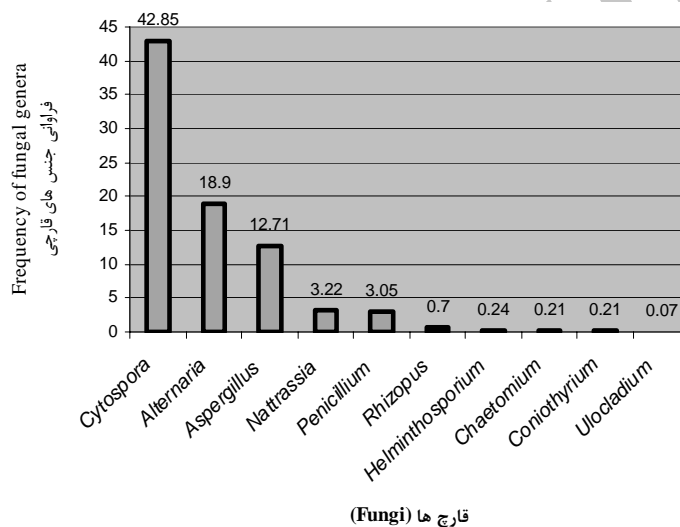
هشت جدایه روی شاخه‌های بریده چنار قادر به ایجاد علائم شانکر بسیار جزئی بودند (شکل A-۲). مایه‌زنی ۴۱ جدایه به شاخه‌های بریده اتوکلاو شده، منجر به تولید پیکنیدیوم شد (شکل B-۲)، ولی همین جدایه‌ها هیچ‌کدام قادر به تولید پیکنیدیوم و ایجاد فتیله روی شاخه‌های بریده اتوکلاو نشده نبودند. لذا می‌توان چنین بیان کرد که دو مسئله مقاومت گیاه و مواد غذایی علاوه بر درجه مهاجم بودن قارچ می‌توانند به نحوی در تشکیل پیکنیدیوم، پیشرفت قارچ و ایجاد علائم مؤثر باشند.

در بررسی تخصص میزبانی جدایه‌های سیتوسپورا، از ۱۰ جدایه سیتوسپورا، پنج جدایه علائم شانکر بسیار مختصری روی شاخه‌های بریده شده ارغوان ایجاد کردند و یک جدایه، نیز روی شاخه‌های بریده شده توت خوراکی، شانکر مختصری ایجاد نمود ولی هیچ‌کدام از جدایه‌ها روی شاخه‌های بریده شده سیب، گردو، نارنج، کاج، زبان گنجشک و افرای شبه چناری علائم شانکر ایجاد نکردند. بنابراین ترجیح میزبانی تا حدودی در این گونه بالا است. مایه‌زنی در شرایط طبیعی نشان داد که



شکل ۲. A. شانکر خفیف ایجاد شده به وسیله یکی از ۸ جدایه بیماری از *Cytospora theryana* روی شاخه‌های بریده چنار B. تولید پیکنیدیوم و ایجاد فتیله روی شاخه‌های اتوکلاو شده توسط جدایه‌های *C. theryana*

Fig. 2. Mild canker of detached sycamor inoculated with an isolate of *Cytospora theryana*.



نمودار ۱. فراوانی جدایه‌های قارچی به دست آمده از درختان چنار در شهرستان شیراز

Diag. 1. Frequency of fungi isolated from sycamor trees in Shiraz city



شکل ۳. علائم بیماری ناشی از *Natrassia mangiferae* روی شاخه‌های چنار

Fig. 3. Disease symptoms of *Natrassia mangiferae* on twigs of plane tree

می‌گیرد از جمله مواردی هستند که می‌توانند در ضعف درختان چنار تأثیرگذار باشند. در این شرایط بیمارگرهایی مانند (Jamali and Banaihashemi 2010) *N. mangiferae* و بعضی از جدایه‌های *Cytospora* قادرند به درختان ضعیف شده حمله و علائم سرخشکیدگی و زوال را تشدید نمایند. به دنبال نتایج این تحقیق اخیراً در برخی از مناطق شهر شیراز انواع تزریق مواد غذایی مکمل به درختان چنار در اوایل فصل پاییز شده که موجب کاهش زوال درختان شده، که موید نقش مواد غذایی در زوال است.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (39-40) متن انگلیسی مراجعه شود.

قارچ نمی‌تواند باشد. واکنش خاک (pH) درختان سالم و درختان دارای علائم زوال و سرخشکیدگی یکسان و بین ۸/۱۶-۸/۷ EC خاک درختان سالم و درختان دارای علائم زوال چنار نیز شبیه و بین ۰/۲۳۲-۲/۴۹۳ ds بود. از نظر نوع بافت خاک نیز خاک درختان سالم و درختان دارای علائم زوال و سرخشکیدگی در گروه خاک‌های میان بافت قرار داشتند. بالا بودن pH خاک و به تبع آن کمبود عناصر ریزمغذی از جمله آهن و منگنز با توجه به نقش مهمی که این عناصر در گیاهان ایفا می‌کنند، فشردگی خاک و هم‌چنین عدم ناسازگاری درختان چنار با آب و هوای شیراز که جزء مناطق نیمه‌خشک و خشک است، و با توجه به این که درختان چنار درختانی با نیاز آب زیاد هستند (۹ میلی‌متر در روز) (Motaghi 1985) ولی در شیراز آبیاری درختان چنار به ندرت و خیلی نامنظم صورت