مطالعه بیماری اسکای مو در بجنورد*

STUDY OF ESCA DISEASE OF GRAPEVINE IN BOJNOURD

اکرم فراشیانی[1]**، سید علی موسوی جرف[2] و محمود رضا کریمی شهری[3]

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۶/۲۱؛ تاریخ پذیرش:۱۳۹۰/۱۱/۱۲)

چکیده

به منظور مطالعه بیماری اسکای مو طی سال‌های ۱۳۸۶-۱۳۸۴ از باغات انگور در بجنورد (استان خراسان شمالی) بازدید به عمل آمد و از درختان دارای علایم بیماری نمونه‌برداری گردید. جداسازی عامل بیماری با به‌کارگیری محیط کشت‌های عصاره سیب‌زمینی- دکستروز- آگار(PDA)، عصاره مالت- آگار (MEA) وعصاره بولاف- آگار (OA) از شاخه‌ها و تنه‌های آلوده انجام شد. در این بررسی ۶۴ جدایه قارچی شامل *PhaeomoniellaChlamydospora* (=*P.chlamydospora*), *Phaeoacremonium parasiticum* (=*Pm.parasiticum*)، *Fomitiporia mediterranea* (=*F.mediterranea*)، *Fusarium* sp. و *Phoma* sp. جداسازی و شناسایی گردید. آزمون بیماری‌زایی با جدایه‌های *P.chlamydospora*، *Pm.parasiticum* و *F.mediterranea* در شرایط گلخانه‌ای با مایه‌زنی روی قلمه و در شرایط مزرعه‌ای روی شاخه‌های درختان انگور ۲-۱ ساله رقم پیکامی انجام شد. علایم بیماری در شرایط گلخانه روی قلمه‌های مایه‌زنی شده به صورت خشک شدن و ریزش برگ‌ها و در شرایط مزرعه‌ای در شاخه‌های مایه‌زنی شده با *Pm.parasiticum* و *P.chlamydospora* به صورت تغییر رنگ بافت چوب و آوند و در شاخه‌های مایه‌زنی شده با *F.mediterranea* به صورت ظهور پوسیدگی سفید در محل مایه‌زنی مشاهده گردید. از درختان انگوری که علایم بیماری را نشان داده بودند، عوامل قارچی جداسازی و شناسایی گردیدند.

واژه‌های کلیدی: بیماری اسکا، انگور، *Phaeoacremonium*، *Phaeomoniella* و *Fomitiporia*.

Archive of SID

---

*: بخشی از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد نگارنده اول، ارایه شده به دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

**: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: azadeh2485@yahoo.com

۱. دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

۲. استادیار بیماری‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

۳. عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی

www.SID.ir

مقدمه

انگور (*Vitis vinifera* L.) با سطح زیر کشتی معادل ۲۸۰۰۰۰ هکتار به عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات باغبانی در ایران محسوب می‌گردد. بیماری اسکا یکی از بیماری‌های مهم انگور است که باعث اضمحلال چوب و خشک شدن درخت‌های آلوده به این بیماری می‌شود (Mugnai *et al*. 1999). اسکا در لاتین به معنای غذا و قوت می‌باشد که می‌تواند معنای طعمه را نیز داشته باشد (Surico 2000). علایم بیماری اسکا به دو صورت مزمن و حاد قابل مشاهده است. در حالت مزمن، علایم درونی به صورت پوسیدگی سفید بافت چوب است که بیشتر بر روی گیاهان بالغ (۱۰-۸ سال و قدیمی‌تر) مشاهده می‌شود در این حالت بافت سخت چوب به توده‌ای پوسیده و اسفنجی به رنگ زرد کرم تا سفید تبدیل می‌شود. بافت پوسیده توسط یک خط ضخیم سیاه یا قهوه‌ای تیره احاطه می‌گردد که آن را از بافت سالم جدا می‌کند (Chiarappa 2000). پوسیدگی و تغییر رنگ بافت چوب در درختان آلوده نتیجه تغییرات فیزیولوژیکی و ساختاری مختلفی مانند ورود آب و هوا به داخل زخم‌ها و نواحی صدمه دیده و اکسید شدن بافت‌ها، تغییرات ایجاد شده توسط آنزیم‌های تجزیه‌کننده سلولز و لیگنین قارچ‌های همراه با بیماری اسکا (Marchi *et al*. 2001)، ایجاد تایلوز و تولید مواد مختلف با وزن مولکولی بالا توسط عامل بیماری و انسداد آوندها (Evidente *et al*. 2000, Sparapano *et al*. 2000)، نکروزسلول‌های پارانشیم چوبی به دلیل تولید زهرابه‌های قارچی یا فیتوالکسین‌های گیاهی یا هر دو مورد در گیاهان بیمار می‌باشد (Tabacchi *et al*. 2000).

یکی از مهم‌ترین علایم برگی بیماری اسکا وجود لکه‌های سبز روشن مدور یا نامنظم در بین رگبرگ‌ها یا در طول حاشیه برگ‌هاست که با تغییر رنگ لکه‌های برگی به زرد، قرمز و قهوه‌ای، نقوشی شبیه پوست پلنگ (Tiger strips) در برگ ایجاد می‌شود (Mostert *et al*. 2006 b). علایم بیماری اسکا روی حبه‌ها به صورت نقاط ریز قهوه‌ای سیاه، سبز یا ارغوانی رنگ است که به خال سیاه معروف است که با زیاد شدن تعداد لکه‌ها در پوست حبه‌ها ممکن است سطح آن ترک خورده و خشک شوند (Mugnai *et al*. 1999). گاهی اوقات حبه‌های روی درختان بیمار دارای قند کمتر و ترکیبات نیتروژنی بیشتری هستند که کاهش قند مربوط به کاهش فتوسنتز در پهنک برگ‌های نکروزه شده می‌باشد (Calzarano *et al*. 2001). شکل حاد بیماری اسکا همراه با خشک شدن ناگهانی کل درخت یا قسمتی از آن در اواسط تابستان است که به آن سکته مو(Apoplexy) هم گفته می‌شود. در این حالت خوشه‌ها، برگ‌ها و شاخه‌های درختان آلوده طی چند روز خشک می‌شوند (Mugnai *et al*. 1999, Surico *et al*. 2000).

اگر چه تاکنون عامل اصلی بیماری اسکا مشخص نشده است ولی مطالعات نشان داده است که این بیماری به عنوان یک بیماری پیچیده با قارچ‌های مختلفی از جمله بازیدیومیست‌ها، آسکومیست‌ها و هیفومیست‌ها همراه است. در فرانسه، ایتالیا و برخی از کشورهای دیگر، بازیدیومیست‌هایی مانند *Fomitiporia punctata* (Fr.) Murrill و با فراوانی کمتر قارچ *Stereum hirsutum* (Willd.: Fr.) Pers برای چندین سال به طور مداوم از چوب‌های دارای علایم پوسیدگی سفید انگور جداسازی شده است *F. mediterranea* M. Fischer (Serra *et al*. 2000). یک بازیدیومیست مربوط به راستهٔ *Hymenochaetales* و همراه با بیماری اسکا می‌باشد که دارای پراکندگی جغرافیایی گسترده است که از اروپا (اتریش، فرانسه، آلمان، یونان، مجارستان، ایتالیا، اسلونی، اسپانیا و سوئیس)

www.SID.ir

و آسیا (هند و ایران)گزارش شده است و علاوه بـر انگـور از افرا، کیوی، زغال اختـه، فنـدق، زیتـون، بلـوط و اقاقیـا گزارش شده است (Fischer 2006).

از قارچ‌های غیربازیدیومیستی که از بافت چوب‌های تغییر رنگ یافته درانگورهای بیمار جـدا شـده اسـت مـی‌تـوان بـه آسکومیـست‌هـای *Eutypa lata* (Per.: Fr.) Tul. & C. Tul و *Botryosphaeria obtusa* (Schewin.) Shoemarker اشاره کرد. گونه‌های *Phaeoacremonium* به عنوان یـک هیفومیست به فراوانی از نواحی تغییر رنگ یافته چـوب در انگورهای بیمار از بیشتر نقاط موکاری گزارش شده اسـت. *Phaeoacremonium* با ۶ گونـه در سـال ۱۹۹۶ توسـط *کـروس و همکـاران* (Crous *et al*. 1996) توصـیف گردید که دارای گونه‌هـای بیمـاری‌زای گیـاهی و انـسانی مـی‌باشـد (Whiting *et al*. 2001). تـاکنون ۳۱ گونـهٔ *Phaeoacremonium* توصیف شده است کـه حـدود ۲۴ گونهٔ آن از انگور جداسازی شده است که در این میـان بـه نظر می‌رسد *Phaeoacremonium aleophilum* فراوانی بیشتری در انگور دارد (Mostert *et al*. 2006b). مطالعـات نـشان داد کـه *Pm. chlamydosporum* مربـوط بـه راسـتهٔ *Chaetothyriales* و خـــانواده *Herpotrichiellacaece* اسـت (Dupont *et al*. 2000, Rooney *et al*. 2005) و در نهایت با انجام مطالعات مولکولی این گونـه در جـنس جدید *Phaeomoniella* و گونـه *P. chlamydospora* معرفـی شـد(Crous & Gams 2000). ایـن گونـه درمحیط کشت تولیـد سـاختارهای کلامیدوسـپور ماننـد می‌کند که با نگهداری چوب انگـور در محـیط مرطـوب پس از ۴-۳ هفته، پیکنید یوم‌های سـیاه رنـگ کـوچکی تولید می‌کند. پیکنیدیوسپورها نقش کنیدیومی داشته و با هیچ جنس سیلومیستی مـشابه نبـوده و آن را بـه عنـوان سین آنامورف *P. chlamydospora* در نظر گرفتـه‌انـد (Pascoe & Cottral 2000). فرم جنسی *Phaeoacremonium* پیرنومیـــست *Togninia* اســـت کـــه ابتـــدا در راســـته *Calosphaeriales* طبقـه‌بنـدی شـد امـا بررسـی‌هـای فیلوژنتیکی DNA نشان داد که این جنس مربوط به راسـته *Diaporthales* می‌باشد (Mostert *et al*. 2006a).

بیماری اسکا در ایران ابتدا در سال ۲۰۰۱ از بجنورد (خراسان شمالی) توسـط *کریمـی و همکـاران* (Karimi *et al*. 2001) گزارش شـد. در مطالعـات انجـام شـده در اسـتان فـارس گونـه‌هـای *P. chlamydospora*، *Pm. aleophilum*، *Phaeoacremonium* sp.، *Phoma* sp.، *Fusarium* sp. و *Natrasia* sp. از موهای دارای علایـم زوال جداسـازی شـــدند (Mohammadi & Banihashemi 2007). *بنـی هاشـمی و همکـاران* (Banihashemi *et al*. 2009) گونه‌های *Pm. aleophilum* و *P. chlamydospora* (جـدا شده از موهای دارای علایم بیماری اسکا و بیماری پتـری) و با فراوانی کمتر *Pm. parasiticum* و *Pm. inflatipes* (جدا شـده از موهـای دارای علایـم پتـری) را از درختـان انگور با علایم زوال در ایران براساس خـصوصیات مورفولـوژی و مولکـــولی (PCR- RFLP و beta- tubulin genes) شناسایی و گزارش کردند. بیماری اسـکا مـی‌توانـد باعـث زیان‌های مهم اقتـصادی ناشـی از دوبـاره کـاری وکـاهش محـصول درتاکـستان‌هـا شـود (Fischer 2006). مطالعـه حاضر با هدف بررسی بیماری اسکا، جداسازی و شناسایی عوامل قارچی همراه با این بیماری و مطالعه بیمـاری‌زایـی جدایه‌های به دست آمده انجام شده است.

روش بررسی

نمونه‌برداری

در فصول زراعی ۱۳۸۶-۱۳۸۴ از ۲۹ باغ انگـور در ناحیـه بدرانلو از توابع شهرستان بجنـورد (مرکـز اسـتان خراسـان

Archive of SID

www.SID.ir

شمالی) نمونه‌برداری به عمل آمد. نمونه‌برداری‌ها از تیرماه تا اواخر تابستان و در چندین مرحله از تنه و شاخه‌های درختان انگور دارای علایم بیماری اسکا شامل تغییر رنگ برگ‌ها به شکل پوست پلنگی و درختان مبتلا به سکته مو انجام شد. نمونه‌های آلوده جهت مطالعه و جداسازی عوامل قارچی به آزمایشگاه منتقل گردیدند.

جداسازی عامل بیماری

جداسازی عامل بیماری از شاخه و تنه درختان آلوده انجام شد. برای این کار ابتدا برش‌های عرضی و طولی از نمونه‌های بیمار تهیه گردید و سپس از بافت‌های پوسیده و از رگه‌های قهوه‌ای و سیاه رنگ قطعاتی در حدود ۰/۵×۰/۵ سانتی‌متر تهیه گردید. قطعات به مدت ۵-۳ دقیقه با هیپوکلریت سدیم (Naocl) یک درصد گندزدایی شدند و پس از شستشو با آب مقطر سترون و خشک شدن روی کاغذ صافی سترون، روی محیط کشت‌های PDA و MEA قرار داده شدند. تشتک‌های پتری در دمای ۲۵ $^{\circ}$C نگهداری و روزانه مورد بررسی قرار گرفتند.

شناسایی جدایه‌ها

جدایه‌های به‌دست‌آمده ابتدا به روش تک اسپور کردن روی محیط آب آگار ۲ درصد (WA) خالص شدند. جهت شناسایی جدایه‌های *Phaeoacremonium* از کلیدهای شناسایی *کروس و همکاران* (Crous *et al*. 1996) و *موسترت و همکاران* (Mostert *et al*. 2006a) و محیط کشت‌های PDA ، MEA و OA استفاده شد. شناسایی جدایه‌های *Phaeoacremonium* با توجه به خصوصیات مورفولوژیکی مانند قطر زگیل‌های روی ریسه، طول و عرض کنیدیوفورها، فیالیدها، کنیدیوم‌ها و یقهٔ قیفی شکل انتهای فیالیدها انجام شد (Mostert *et al*. 2006a). جهت تعیین اثر دما روی رشد پرگنه‌ها، جدایه‌ها ابتدا روی محیط MEA کشت و در دامنه دمایی ۴۰-۱۵ $^{\circ}$C (با فواصل ۵ $^{\circ}$C) و شرایط تاریکی نگهداری شدند و قطر پرگنه‌ها پس از ۸ روز ارزیابی شد (Mostert *et al*. 2006a). رنگ، بافت و تولید رنگ دانه در پرگنه‌ها پس از ۸ و ۱۶ روز مورد بررسی قرار گرفت. خصوصیات مورفولوژی از قبیل طول و عرض کنیدیوفورها ، فیالیدها، کنیدیوم‌ها، یقهٔ قیفی شکل انتهای فیالیدها و قطر کلامیدوسپورها نیز جهت شناسایی جدایه‌های *Phaeomoniella* استفاده شد (Crous & Gams 2000). جهت مطالعه خصوصیات میکروسکوپی از ریسه‌های حاشیه پرگنه استفاده شد و برای هرخصوصیت ۱۰۰ عدد اندازه‌گیری انجام شد.

آزمون بیماری‌زایی

آزمون بیماری‌زایی در شرایط گلخانه‌ای با مایه‌زنی قلمه‌ها و در شرایط مزرعه‌ای با مایه‌زنی شاخه‌های درختان انگور ۲-۱ ساله رقم پیکامی انجام شد. مایه‌زنی با ایجاد یک سوراخ ۴ میلی‌متری روی قلمه‌ها و شاخه‌ها و قرار دادن یک قرص میسلیومی ۴ میلی‌متری از کشت‌های ۲ هفته‌ای جدایه‌ها روی محیط PDA انجام گردید. محل مایه‌زنی با یک پنبه مرطوب و پارافیلم پوشش داده شد. در قلمه‌ها و شاخه‌های شاهد نیز از قرص میسلیومی ۴ میلی‌متری محیط PDA بدون مایه قارچ استفاده گردید. علایم بیماری پس از ۶ ماه مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

نمونه‌برداری و علایم بیماری

در باغات نمونه‌برداری شده علایم مختلفی از بیماری اسکا مشاهده شد. علایم خارجی شامل وجود لکه‌های زرد، قرمز و قهوه‌ای بین رگبرگی و نقوش پوست پلنگی بود. در

www.SID.ir

برش عرضی از شاخه و تنه درختان آلوده پوسیدگی سفید اسفنجی چوب و قهوه‌ای شدن بافت آوندی به عنوان علایم داخلی قابل مشاهده بود. در اواسط تابستان نیز علایمی شبیه به سکته مو یا زوال ناگهانی در برخی درختان مشاهده گردید که در این حالت درختان آلوده به‌طور کامل خشک شده بودند (شکل۱). علایم بیماری اسکا اغلب در باغاتی که بیش از ۲۰ سال سن داشتند مشاهده گردید هر چند که در همه موارد علایم بیماری روی حبه‌ها دیده نشد.

جداسازی و شناسایی عوامل بیمارگر

در این بررسی ۶۴ جدایه قارچی شامل ۱۸ جدایه *F. mediterranea*، ۲۰ جدایه *P. chlamydospora*، ۱۸ جدایه *Pm. parasiticum* و ۸ جدایه *Fusarium* sp.، *Acremonium* sp. و *Phoma* sp. از درختان دارای علایم بیماری جداسازی و شناسایی شد.

خصوصیات *Phaeoacremonium parasiticum*

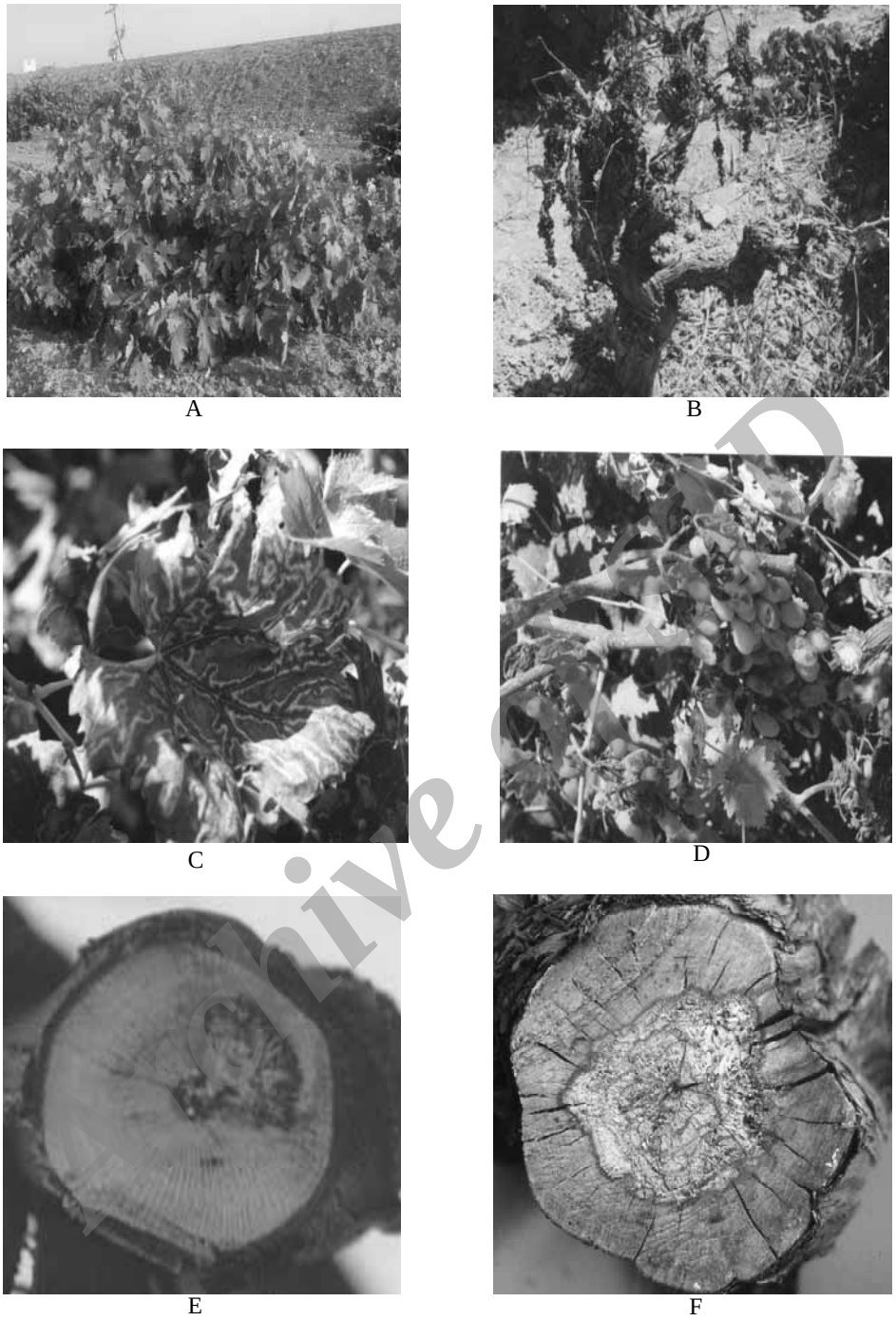
ریسه دارای زگیل‌هایی به قطر ۴-۲ میکرومتر بود، کنیدیوفورها به طول ۱۴۸- ۱۸ میکرومتر (میانگین ۷۶ میکرومتر) و عرض ۳/۵-۱ میکرومتر (میانگین ۱/۵میکرومتر) بودند، فیالیدهای تیپ I استوانه‌ای شکل در قاعده عریض به طرف راس به تدریج باریک می‌شدند که دارای طول ۱۳-۳ میکرومتر (میانگین ۶/۷ میکرومتر) و عرض ۱/۵-۰/۵ میکرومتر (میانگین ۱ میکرومتر) بودند، فیالیدهای تیپ II استوانه‌ای شکل به طول ۲۰- ۸ میکرومتر (میانگین ۱۳/۲ میکرومتر) و عرض ۳-۱ میکرومتر (میانگین ۱/۵ میکرومتر) بودند و فیالیدهای تیپ III اغلب استوانه‌ای شکل تا درفشی به طول ۳۷-۱۱میکرومتر (میانگین ۲۱/۵ میکرومتر) و عرض ۲-۰/۵ میکرومتر (میانگین ۲میکرومتر) بودند. تمام فیالیدها در انتها به یک یقه قیفی شکل بسیار باریک ختم می‌شدند که طول آن ۲-۱ میکرومتر (میانگین ۱/۶ میکرومتر) و عرض آن ۲-۰/۵ میکرومتر (میانگین ۱/۱ میکرومتر) بود. رنگ پرگنه روی محیط OA پس از ۱۶ روز خاکستری و روی محیط PDA خاکستری مایل به قهوه‌ای بود (شکل۲-A,D,F). دمای کمینه، بهینه و بیشینه پرگنه به ترتیب°C ۱۵،°C ۳۰ و °C ۴۰ و میزان رشد پرگنه در دمای°C ۲۵ (شرایط تاریکی و پس از ۸ روز) ۱۷/۵- ۱۶/۵ میلی‌متر ارزیابی شد.

خصوصیات *Phaeomoniella chlamydospora*

ریسه‌ها لوله‌ای شکل به قطر ۴-۱ میکرومتر (میانگین ۲/۵ میکرومتر) بودند، ساختارهای شبه کلامیدوسپور در محیط کشت WA به صورت زنجیری یا پراکنده و به قطر ۲۱- ۴ میکرومتر (میانگین ۵/ ۶ میکرومتر) بودند، طول کنیدیوفورها ۵۶-۱۰ میکرومتر (میانگین ۲۸ میکرومتر) و عرض آن ۴-۱ میکرومتر (میانگین ۲/۵ میکرومتر) بود، سلول‌های مولد کنیدیوم به صورت منفرد و انتهایی بودند که طول ۵۹-۱۱ میکرومتر (میانگین ۲۸/۷ میکرومتر) و عرض ۴-۱ میکرومتر (میانگین ۲/۵ میکرومتر) داشتند و کنیدیوم‌های تیره در انتهای سلول مولد کنیدیوم در ساختارهای شبیه سرهای دروغین و به طول ۶-۲ میکرومتر (میانگین ۴ میکرومتر) و عرض ۳-۱ میکرومتر (میانگین ۱/۳ میکرومتر) بودند. رنگ پرگنه روی محیط MEA سبز- زیتونی تا زیتونی سیاه بود. این جدایه رشد مخمری در محیط کشت داشت. دمای کمینه، بهینه و بیشینه پرگنه به‌ترتیب °C ۱۵،°C ۲۵ و °C ۳۵ و رشد شعاعی پرگنه در دمای°C ۲۵ (شرایط تاریکی و پس از ۸ روز) ۱۶ میلی‌متر ارزیابی شد (شکل ۲.C,E,G).

Archive of SID

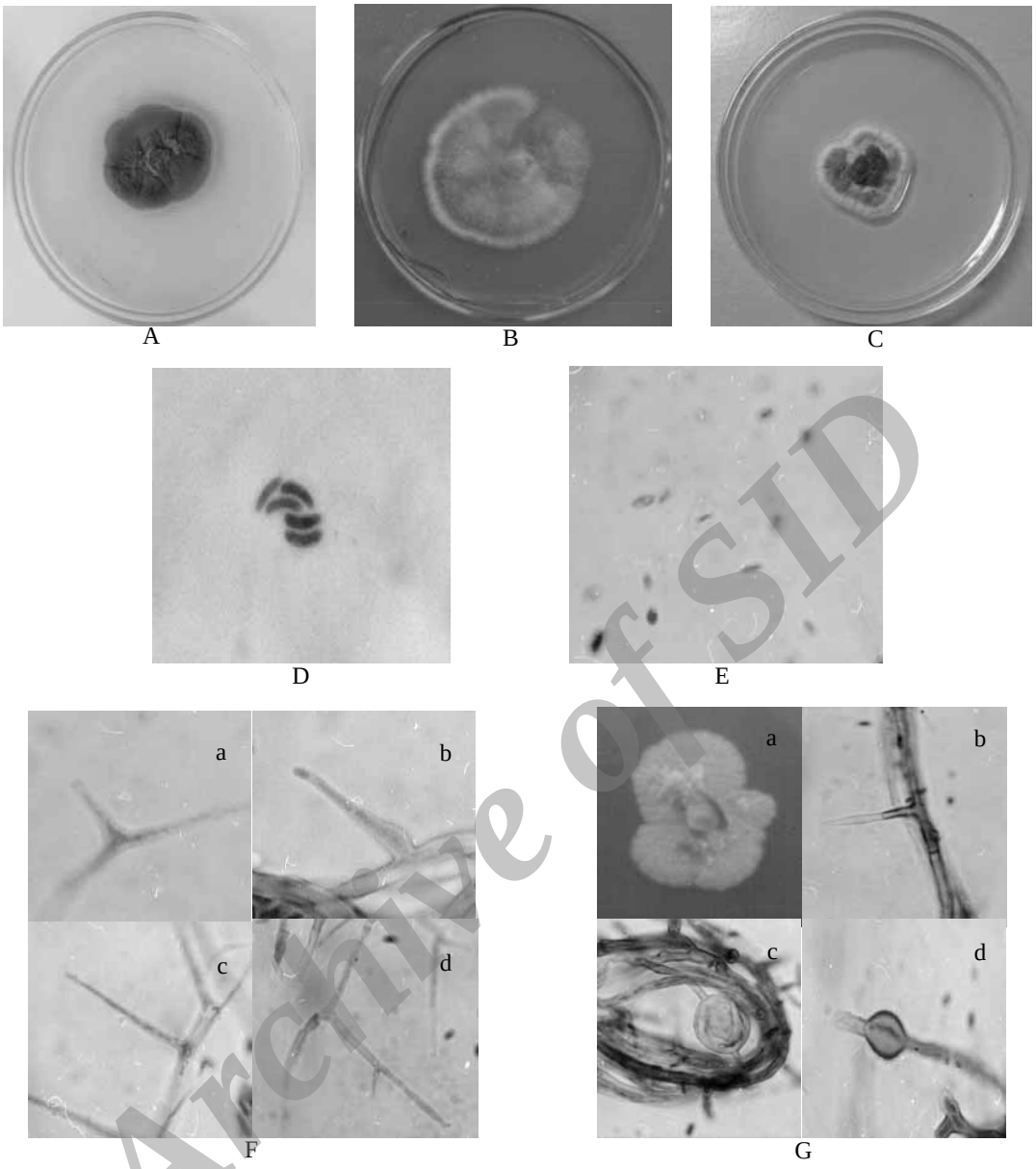
www.SID.ir



شکل ۱. علایم داخلی و خارجی بیماری اسکای مو: **A**: درخت سالم **B**: علایم سکته مو **C**: علایم برگی **D**: علایم روی حبه‌ها **E**: علایم قهوه‌ای شدگی بافت در برش عرضی از شاخه‌های درختان بیمار **F**: علایم پوسیدگی سفید در برش عرضی از شاخه‌های درختان بیمار

Fig. 1. External and internal symptoms associated with esca disease of grapevine, Healthy plant (A), Apoplexy symptoms (B), Leaf symptoms (C), Black spots on berries (D), Wood discoloration in cross section (E), White decay symptoms in cross section (F).

www.SID.ir



شـکل ۲. **A**، **D** و **F** خـصوصیات ***Phaeoacremonium parasiticum*** ؛ **A**، پرگنـه ۱۶ روزه قـارچ روی **PDA**، **D**، کنیـدیوم؛ **F**، خصوصیات میکروسکوپی (**a**: فیالید تیپ I. **b**: فیالید تیپ II. **c**: فیالید تیـپIII. **d**: کنیـدیوفور). **E**،**C** و**G** خـصوصیات ***Phaeomoniella chlamydospora***؛ **C**، پرگنه ۱۶ روزه قارچ روی **MEA**. **E**، کنیدیوم؛ **G**، خصوصیات میکروسـکوپی و رشـد مخمری قارچ (**a**: رشد مخمری پرگنه ۱۰ روزه روی **PDA**. **b**: فیالید. **C** و **d**: ساختارهای شبه کلامیدوسپور). **B**، پرگنـه ۱۰ روزه ***Fomitiporia mediterranea*** روی محیط کشت **MEA**.

Fig. 2. *Phaeoacremonium parasiticum* (A, D, F) 16 day-old colony on PDA (A), Conidia (D), Microscopic structures (F) Type I phialide (a), type II phialide (b), type III phialide (c), conidiophore (d). *Phaeomoniella chlamydospora* (C,E,G) 16 day-old colony on MEA (C), Conidia (E), G: yeast- like growth of 10 day- old colony on PDA (a), Phialid (b), Chlamydospore like structures (c and d). 10 day-old colony of *Fomitiporia mediterranea* on MEA (B).

www.SID.ir

خصوصیات *Fomitiporia mediterranea*

در این تحقیق ۱۸ جدایه از شاخه‌هایی که دارای علایم پوسیدگی سفید بودند جداسازی گردید که فاقد اسپور بودند و روی محیط کشت MEA پرگنه عسلی رنگ تولید می‌کردند. دمای کمینه، بهینه و بیشینه جدایه‌های مذکور به‌ترتیب C ° ۱۵،C ° ۲۵ و C ° ۴۰ و رشد شعاعی پرگنه در دمایC ° ۲۵ (شرایط تاریکی و پس از ۸ روز) ۲۸ میلی‌متر ارزیابی شد. جدایه‌ها به مؤسسهٔ تحقیقاتی در ایتالیا ارسال و براساس خصوصیات مولکولی (ناحیه ITS ریبوزومی) به عنوان *F. mediterranea* شناسایی شدند (شکل۲-B).

آزمون بیماری‌زایی

نتایج حاصل از آزمون بیماری‌زایی در شرایط گلخانه‌ای و ۶ ماه پس از مایه‌زنی به صورت زردی و خشکیدگی قلمه‌ها مشاهده شد (شکل۳-A). در شرایط مزرعه‌ای *Pm. parasiticum* و *P. chlamydospora* باعث ایجاد تغییر رنگ بافت چوب و *F. meditarranea* باعث پوسیدگی سفید چوب در شاخه‌های مایه‌زنی شده گردید (شکل۳-B,C,Dو). از نواحی تغییر رنگ یافته جدایه‌های مربوطه مجدداً جداسازی و شناسایی شدند.

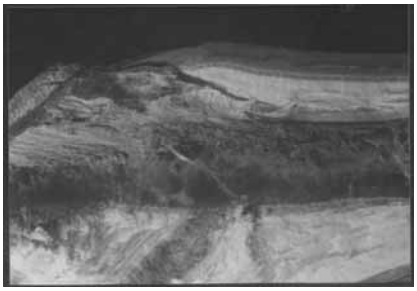
بحث

بیماری اسکا با شدت‌های مختلف از مناطق مختلف کشت انگور در اروپا، آمریکای شمالی و جنوبی، استرالیا، نیوزیلند و آفریقای جنوبی گزارش شده است (Fischer 2002). شدت بیماری اسکا در پرتغال، اتریش، فرانسه و آلمان به‌ترتیب ۲۰، ۱۱، ۱۵و ۱۹ درصد تخمین زده شده است. در ایتالیا این بیماری در تمام نواحی پرورش انگور دیده می‌شود و شدت آن سالیانه در تاکستان‌های ۲۵-۱۵ ساله حدود ۵۰-۱ درصد می‌باشد (Mugnai *et al*. 1999). بیماری اسکا بیشتر در نواحی مدیترانه‌ای اهمیت دارد، به‌طوری‌که شدت این بیماری در ۵۰٪ تاکستان‌ها بین ۳۰-۲۰٪ ارزیابی می‌شود (Fischer 2002). در ایران بیماری اسکا از نواحی مختلف استان فارس با آب و هوای متفاوت، گزارش شده که نشانگر اهمیت این بیماری است (Mohammadi & Banihashemi 2007). نتایج بررسی حاضر وجود بیماری اسکا در باغات انگور ناحیه بدرانلوی استان خراسان شمالی (با آب و هوای سرد) را نشان می‌دهد.

علایم بیماری اسکا در بیشتر باغات این ناحیه به‌ویژه باغ‌های قدیمی دیده شد. مطالعه بیماری اسکا نشان داده است که علایم این بیماری با توجه به خصوصیات فیزیولوژیکی و ساختاری بسیار متغیر است. ظهور علایم بیماری اسکا تحت تأثیر فاکتورهای مختلف مانند سن گیاه، حساسیت کولتیوارها، نحوه آلودگی، سن حلقه‌های سالیانه مورد حمله، واکنش بافت‌های میزبان و عوامل محیطی مانند تغذیه، آب کافی، درجه حرارت و... است (Graniti *et al*. 2000). این بررسی نشان داد که در اکثر باغات، تنه انگورهای مبتلا به بیماری اسکا دارای پوسیدگی پیشرفته سفید و تغییر رنگ آوندی بودند. بافت چوب در این نواحی نرم و اسفنجی بود.در نمونه‌برداری‌ها علایم برگی به شکل نقوش پوست پلنگی بودند و نقاط قهوه‌ای تا سیاه رنگ روی حبه‌ها دیده شد. در این مطالعه الزاماً تمام درختان آلوده به بیماری اسکا دارای نقاط قهوه‌ای تا سیاه رنگ روی حبه‌ها نبودند. علایم حاد بیماری به شکل سکته و خشکیدن ناگهانی انگور در تابستان در بیشتر باغات دیده شد. مطالعات نشان داده است که علایم بیماری اسکا روی برگ‌ها و حبه‌ها همه ساله به‌طور مستمر قابل مشاهده نیست (Mugnai *et al*. 1999).

www.SID.ir

A



B

C

D

شکل ۳. علایم بیماری حاصل از *Phaeoacremonium parasiticum*، *Phaeomoniella chlamydospora* و *Fomitiporia mediterranea* در گلخانه (**A**) و مزرعه(**B,C**وD) ۶ ماه پس از مایه‌زنی. **A**: علایم زردی و خشکیدگی قلمه‌های مایه‌زنی شده با *Phaeoacremonium parasiticum*. **B**: رشد میسلیوم *Phaeoacremonium parasiticum* در انگور مایه‌زنی شده در مزرعه. **C**: علایم پوسیدگی سفید چوب در اثر مایه‌زنی با *Fomitiporia mediterranea* در شرایط مزرعه. **D**: علایم تغییر رنگ بافت آوندی در انگور مایه‌زنی شده با *Phaeomoniella chlamydospora* در شرایط مزرعه.

Fig. 3. Disease symptoms of grapevine inoculated with *Phaeoacremonium parasiticum*, *Phaeomoniella chlamydospora* and *Fomitiporia mediterranea* in the greenhouse (A) and field (B,C,D) after 6 months, defoliatin and wilting symptoms of inoculated cuttings caused by *Phaeoacremonium parasiticum* (A), Mycelium growth of *Phaeoacremonium parasiticum* in inoculated grapevine (B), White wood decay symptoms of grapevine caused by *Fomitiporia mediterranea* in the field (C), Wood discoloration in grapevine inoculated with *Phaeomoniella chlamydospora* in the field (D).

Archive of SID

www.SID.ir

اگرچه تاکنون قارچ‌های مختلفی همراه با انگورهای آلوده به اسکا گزارش شده است ولی در این میان بازیدیومیست‌های پوساننده چوب مانند *F. punctata*، آسکومیست *E. lata* و قارچ‌های هیفومیستی مانند *P. chlamydospora* و *Pm. aleophilum* و به مقدار کمتر *Pm. inflatipes* و *Pm. angustius* از اهمیت بیشتری برخوردارند. این گونه‌ها با فراوانی بالا از قسمت‌های تغییر رنگ یافته چوب انگورهای آلوده به اسکا به ویژه از رگه‌های طولی سیاه یا قهوه‌ای جداسازی شده‌اند (Armengol *et al.* 2001, Chiarappa 2000, Gatica *et al.* 2001, Delrio *et al.* 2001). بیشترین جدایه به‌دست آمده از نواحی تغییر رنگ یافته چوب مربوط به *P. chlamydospora* و *Pm. aleophilum* می‌باشد (Mugnai *et al.* 1999).

یکی از علایم مهم بیماری اسکا، پوسیدگی سفید چوب درون تنه و شاخه‌های اصلی است که توسط بازیدیومیست‌هایی مانند *Phellinus igniarius*، *F. punctata*، *F. mediterranea* و با فراوانی کمتر *S. hirsutum* ایجاد می‌شود(Fischer 2002). مطالعات نشان داده است که بازیدیوکارپ *F. mediterranea* به‌ندرت دیده شده چرا که در قارچ‌های پوساننده چوب، تشکیل اندام باردهی اغلب مرتبط با سن و یا شرایط گیاه میزبان است. تنه‌های مردهٔ درختان انگور احتمالاً برای تولید اندام باردهی مناسب‌تر هستند که اغلب از تاکستان دور می‌شوند. در نواحی مدیترانه‌ای تعداد قابل توجهی از اندام‌های باردهی *F. mediterranea* ممکن است روی میزبان‌های دیگر، خارج تاکستان تشکیل شوند (Fischer 2006). از گونه‌های مهم هیفومیستی دخیل در بیماری اسکا در ایران *Pm. parasiticum*، *Pm. aleophilum* و *P. chlamydospora* را می‌توان نام برد (Grafenhan & Gams 2004).

گونه‌های *Pm. Parasiticum*، *Pm. aleophilum*، *P. chlamydospora*، *Diplodia seriata*، *Neofusicum*، *parvum*، *Cylindrocarpon liriodendr*، *Phoma* sp.، قارچ‌های شبیه *Phialophora* و گونه‌های *Acremonium* از انگورهای دارای علایم مختلف زوال مو جداسازی و گزارش شده است (Mohammadi *et al.* 2008). در مطالعه حاضر از انگورهای دارای علایم بیماری اسکا، جدایه‌های *Pm. parasiticum*، *P. chlamydospora*، *Acremonium* sp.، *Fusarium* sp.، *F. mediterranea* و *Phoma* sp. جداسازی شد.

از بافت دارای پوسیدگی سفید گونه *F. mediterranea* با فراوانی بالا جدا شد و از نواحی بافت‌های آلوده آوندی نیز گونه‌های *P. chlamydospora* و *Pm. parasiticum* با فراوانی بیشتر نسبت به بقیه جدایه‌ها، جداسازی شدند. جدایه‌های *Pm. parasiticum* با توجه به عدم تولید رنگدانه زرد روی محیط OA و داشتن پرگنه‌هایی با ظاهر خشن روی محیط PDA به همراه جدایه‌های *P. chlamydospora* بیشترین جداسازی از بافت‌های تغییر رنگ یافته را در این بررسی به خود اختصاص داده‌اند. *P. chlamydospora* و *Phaeoacremonium* spp. قارچ‌های اندوفیت یا بیمارگر نهفته در بافت انگور هستند و زمانی که انگور تحت استرس (دمای پایین، آبیاری ناکافی و میوه‌دهی زود هنگام) و کمبود قرار می‌گیرد به عنوان بیمارگر عمل می‌کنند. *P. chlamydospora* و *Phaeoacremonium* spp. در اثر تولید تیلوز باعث تیرگی آوندهای چوبی و در نهایت انسداد آن می شوند (Whiting *et al.* 2001). کنیدیوم‌های *P. chlamydospora* و *Phaeoacremonium* spp. هوازاد بوده و یک عامل مهم آلودگی زخم‌های هرس می‌باشند (Larignon & Dubos 2000, Mostert *et al.* 2006b).

www.SID.ir

اسپورهای *P. chlamydospora* احتمالاً از پیکنیدیوم روی شاخه‌های انگور آزاد می شوند. اسپورهای *Pm. aleophilum* معمولاً در اوایل تا نیمهٔ تابستان آزاد می‌شوند (Eskalen & Gubler 2001). حشرات قارچ‌خوار و کنه‌ها در اثر تماس با فیالید گونه‌های *Phaeoacremonium* باعث انتشار کنیدیوم‌ها می‌شوند. حضور پریتسیوم *T. minima* (فرم جنسی *Pm. aleophilum*) روی چوب انگورها یکی دیگر از منابع اینوکولوم در تاکستان است (Mostert *et al.* 2006b). درحالی‌که در بازیدیومیست‌های عامل بیماری اسکا بازیدیوسپورها که توسط جریان هوا منتشر می‌شوند، نقش کمی در گسترش این بیماری دارند (Mugnai *et al.* 1999).

اسکالن و همکاران (Eskalen *et al.* 2001) یک سال پس از مایه‌زنی قلمه‌های انگور با جدایه‌های *P. chlamydospora*، *Pm. aleophilum* و *Pm. inflatipes* تشکیل رگه‌های قهوه‌ای آوندی را در محل مایه‌زنی گزارش کردند. *گرانیتی و همکاران* (Graniti *et al* . 2000) نشان دادند که مایه‌زنی با *P. chlamydospora* و *Pm. aleophilum* روی انگور باعث ایجاد علایم تغییر رنگ آوندی و مایه‌زنی با *F.punctata* باعث پوسیدگی سفید بافت چوب پس از یک سال می‌شود. *محمدی و بنی‌هاشمی* (۲۰۰۷) با مایه‌زنی قلمه‌های انگور با سوسپانسیون اسپور *Pm. aleophilum* و *P. chlamydospora* در شرایط گلخانه‌ای و مایه‌زنی زخم‌های ایجاد شده روی ساقه و تنه مو با قرص میسلیومی قارچ و سوسپانسیون اسپور در شرایط مزرعه‌ای؛ پس از ۹ ماه علایم برگی و تغییر رنگ آوندی را مشاهده کردند. در این بررسی آزمون بیماری‌زایی برای قارچ‌های *Pm. parasiticum*، *P. chlamydospora* و *F. meditarranea* در شرایط مزرعه‌ای و گلخانه‌ای انجام شد که در شرایط مزرعه‌ای علایم بیماری اسکا شامل تغییر رنگ بافت آوندی و پوسیدگی سفید چوب و در شرایط گلخانه‌ای علایم برگی به صورت زردی و خشکیدگی برگ و در نهایت مرگ قلمه‌ها دیده شد. شیوع بیشتر بیماری اسکا در تاکستان‌های قدیمی بی‌شک خسارات قابل توجهی را متوجه باغداران می‌سازد. برخی قارچ‌های همراه با بیماری اسکا، باعث زوال انگورهای جوان می‌شوند و در تاکستان‌های تازه احداث شده خسارت جبران‌ناپذیری را وارد می‌کنند. خزانه نیز مورد حمله این قارچ‌ها قرار گرفته و مواد تکثیری را آلوده می‌سازند. با توجه به موارد ذکر شده لازم است مطالعات بیشتری روی بیماری اسکا و قارچ‌های همراه با این بیماری انجام شود.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (49-47) متن انگلیسی مراجعه شود.

Archive of SID

www.SID.ir