

بیماری زوال مو در استان فارس*

Grapevine decline in Fars province

حمید محمدی و ضیاءالدین بنی هاشمی**

بخش گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

پذیرش ۱۳۸۶/۱۲/۱

دریافت ۱۳۸۶/۶/۲۸

چکیده

به منظور بررسی بیماری اسکای مو (زوال یا سکنه مو) در استان فارس، طی سالهای ۱۳۸۵-۱۳۸۳ از باغات انگور مناطق مختلف استان از جمله آباده (جوادیه و جنت آباد)، اقلید، بوانات (سوریان و بوانات)، کوار (اکبر آباد و دشتک) و اطراف شیراز از شاخه و تنه موهای دارای علائم بیماری نمونه برداری و به آزمایشگاه منتقل گردید. در این بررسی ۵۱ جدایه قارچ شامل گونه های *Fusarium sp.*, *Phaeoacremonium aleophilum*, *Phaeoconiella chlamydospora*, *Natrassia sp.* و *Phaeoacremonium sp.*, *Phoma sp.*، کوتولگی، تغییر رنگ برگها و قهوه ای شدن آوندها جداسازی گردید که *Phaeoacremonium* با ۲۷ جدایه و *Fusarium sp.* با دو جدایه به ترتیب بیشترین و کمترین تعداد جدایه های بدست آمده را شامل شدند. آزمون بیماریزایی به روش فرو بردن ریشه در سوسپانسیون اسپور در شرایط گلخانه و مایه زنی به شاخه در شرایط مزرعه و تنها در مورد جدایه های *P. aleophilum* و *Pm. chlamydospora* انجام شد. نتایج حاصل از آزمون بیماری زایی در گلخانه نشان داد که نه ماه پس از مایه زنی قلمه ها، علائم برگگی بر روی قلمه ها 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 مایه زنی در

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

** مسئول مکاتبه

شرایط مزرعه‌ای نیز نشان داد 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 مجدداً قارچ جداسازی و شناسایی گردید.

واژه‌های کلیدی: اسکا، سکتة 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 ریشه‌های 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 ۱۹۲۶ را به عنوان اولین دوره مطالعات موثر روی بیماری اسکا در نظر بگیریم، دوره دوم این مطالعات مربوط به سال ۱۹۵۷ تا ۱۹۵۹ می‌باشد. 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

سوم مطالعات روی اسکا از سال ۱۹۸۷ و با مطالعات دویس 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 ۱۹۹۶ 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 گونه های آن در انسان و درختان ایجاد بیماری می کنند (Crous et al. 1996). در ابتدا گونه هایی مانند *Phaeoacremonium aleophilum*، *P. angutius*، *P. inflatipes*، *P. rubrigenum*، *P. parasiticum* و *P. chlamydosporum* به عنوان عامل بیماری اسکا از مو گزارش شده اند که گونه اول به عنوان گونه غالب در بیماری اسکا در مو شناخته می شود (Crous et al. 1996). مطالعات بعدی نشان داد که *P. chlamydosporum* قادر به تشکیل پیکنیدیوم است (Edwards & Pascoe 2001, Eskalen et al. 2002). بررسی های مولکولی انجام شده توسط Dupont و همکاران (۱۹۹۸) براساس بخشی از ترادف های rDNA نشان داد که جنس *Phaeoacremonium* یک جنس ناهمگن است و پیشنهاد شد که *P. chlamydosporum* ظاهراً به آسکومیست های 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 *Phaeoacremonium chlamydospora* منتقل کردند (Crous & Gams 2000). اخیراً نیز گونه جدیدی به نام *P. viticola* از مو و از کالیفرنیا گزارش شده است (Eskalen et al. 2005).

در مطالعات بعدی جدایه ای 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

جنس‌های دیگر منتقل شدند به طوری که اخیراً 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. iraniana*، *Pm. viticola* و *Pm. parasiticum* (Mostert et al. 2006) و گونه های *Fomitiporia mediterranea* *Phaeomoniella chlamydospora* (Grafenhan 2006) از مناطق مختلف ایران جداسازی و شناسایی شده است. مطالعه‌ای که به صورت اجمالی روی زوال مو در استان خراسان در سالهای ۱۳۸۵ و 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 ریشه‌های 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 MEA Malt extract agar (MEA) معمولاً زرد نخودی، سبز زیتونی یا عسلی است. پرگنه آن روی MEA بیشتر به رنگ قهوه‌ای، صاف و تقریباً متراکم است که بعضی مواقع نیز بافتی پشمی (*woolly*) دارند. طول کنیدیوفورها متفاوت است و دارای پنج تا هفت دیواره عرضی بوده و اکثراً قهوه‌ای کم‌رنگ هستند که در انتها و نزدیک سلول‌های مولد کنیدیوم روشن‌تر به نظر می‌رسند. روی ریشه‌های 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 به تدریج در انتها باریک می‌شوند. فیالیدهای تیپ سه در قاعده نیمه سیلندری و در انتها ناگهان باریک می‌شوند و شکل ظاهری مانند درفش دارند. کنیدیوم‌ها

ممکن است به صورت گرد، تخم‌مرغی، سیلندری، کلیوی شکل یا سوسیمی شکل دیده شوند. دو نقطه کوچک در کنیدیومهای کشتهای ۷-۱۴ روزه دیده می‌شود که در حقیقت دو واکتول حاوی روغن یا سایر مواد متابولیکی هستند که در اصطلاح به آنها biguttulate گفته می‌شود (Mostert *et al.* 2005).

Phaeoconiella 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 می‌توان به دو گروه علائم مزمن و حاد تقسیم نمود (Mugnai *et al.* 1999). در گیاهان بالغ ۱۰-۸ ساله یا بیشتر در شاخه‌ها و تنه یک حالت پوسیدگی سفید مشاهده می‌گردد. 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 سبزرده 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 سکنه مو گفته می‌شود که در

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 (سرخشکیدیگی، کوتولگی، مشاهده نقوش سبز-زرد-قرمز در برگها و قهوه‌ای شدن آوندها و ناحیه چوب) نمونه‌برداری انجام شد. از هر باغ ۳-۵ 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

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

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

جداسازی 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 ۲۵°C 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 ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطرسترون ریخته شد و با سرعت ۶۰ حرکت رفت و برگشت به مدت نیم ساعت تکان داده شدند. سپس از سوسپانسیون حاصل به میزان ۱-۲ میلی‌لیتر روی تشتک‌های پتری آب-آگار ریخته و با یک میله L شکل روی محیط پخش شدند. تشتک‌های پتری در دمای ۲۵°C و در زیر نور تا زمان جوانه زنی اسپور ها نگه داری گردیدند. پس از ۷۲-۴۸ 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 دمای ۲۵°C 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 ۲۵°C و در تاریکی نگه داری شدند. نمونه‌ها پس از ۳-۵ 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

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 $10^8 \times 1$ 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 ۴-۳ 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 پارافیلیم 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 $10^8 \times 1$ اسپور در میلی لیتر) مایه‌زنی و مانند روش اول پوشیده شد گیاه شاهد

نیز با آب مقطر سترون مایه‌زنی گردید. (Sidoti et al. 2000). گیاهان مایه‌زنی شده حدود ۶-۵ ماه از نظر ظهور علائم بیماری مورد بررسی قرار گرفتند.

نتیجه

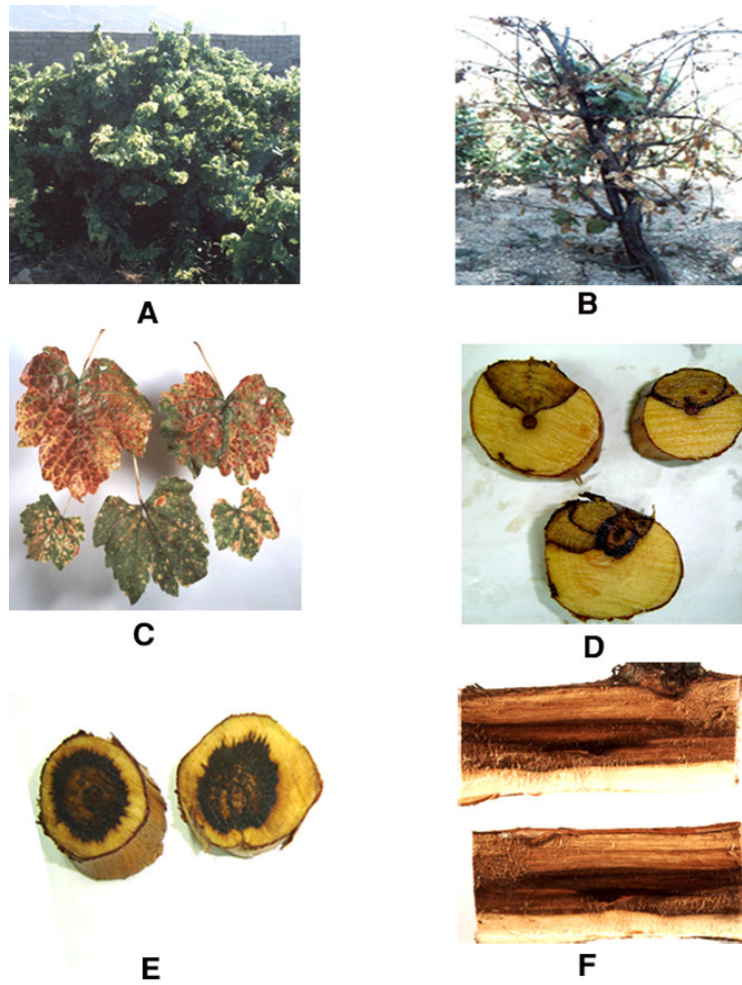
نمونه‌برداری

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 برگری 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 آباد به عنوان مناطق سرد استان مشاهده گردید.

جداسازی و شناسایی عوامل بیماری‌زا

در این بررسی ۴۸ جدایه قارچ از نمونه‌های بیمار و از نقاط مختلف جداسازی و شناسایی گردید از این تعداد ۱۳ جدایه مربوط به *Natrassia* sp., *Fusarium* sp., *Phoma* sp. و ۲۲ جدایه مربوط به *Phaeoacremonium aleophilum* و *Phaeoconiella 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 *Phaeoconiella* و *Phaeoacremonium* قارچ‌هایی مانند *Phoma* sp. نیز جداسازی شد و این در حالی است که در بیشتر موارد *Phaeoacremonium* به عنوان عامل بیماری‌زا از درختان آلوده و دارای علائم بیماری جداسازی گردید و این خود بیانگر اهمیت این جنس در بیماری زوال مو در استان فارس است.



شکل ۱- علائم بیماری زوال مو در استان فارس: A: درخت سالم B: درخت بیمار C: علائم برگ‌گی 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.

Phaeoacremonium aleophilum خصوصیات

میسلیوم به صورت انفرادی یا در گروه‌های چند تایی، ساختار کنیدیوفور اغلب کوتاه و غیر منشعب، طول کنیدیوفور ۱۸-۳۸ میکرومتر، فیالید به‌طور غالب نوع ۲ و ۳، طول فیالید نوع اول ۳-۷، نوع دوم ۸-۱۳ و نوع سوم ۱۸-۲۲ میکرومتر، کنیدیومها سیلندری تخم مرغی و قلوه ای شکل، طول کنیدیومها ۲-۵ و عرض آنها ۲ میکرومتر، ریشه 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 (شکل ۲-۲، A,C, E).

Phaeomoniella chlamydospora خصوصیات

میسلیومها تکی یا در گروه‌های چند تایی، ریشه‌ها قهوه‌ای که در نزدیکی سلول‌های 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. (شکل ۲-۲، 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 Fungal species	تعداد جدایه Number of isolates	محل نمونه‌برداری Location
<i>Phaeoacremonium aleophilum</i>	14	دشتک کوار (KAVd)
		اکبر آباد کوار (KAVa)
<i>Phaeomoniella chlamydospora</i>	8	اکبر آباد کوار (KAVa)
		جوادیه آباد (ABDg)
		بوانات (BAV)
<i>Phaeoacremonium</i> sp.	13	دشتک کوار (KAVd)
		اکبر آباد کوار (KAVa)
		بوانات (BAV)
		اطراف شیراز (SHI)

Table 1 (continued)		جدول ۱- (ادامه)
		اقلید (EGH)
<i>Fusarium</i> sp.	2	دشتک کوار (KAVd)
<i>Phoma</i> sp.	7	بوانات (BAV)
<i>Nattrassia</i> sp.	4	دشتک کوار (KAVd)

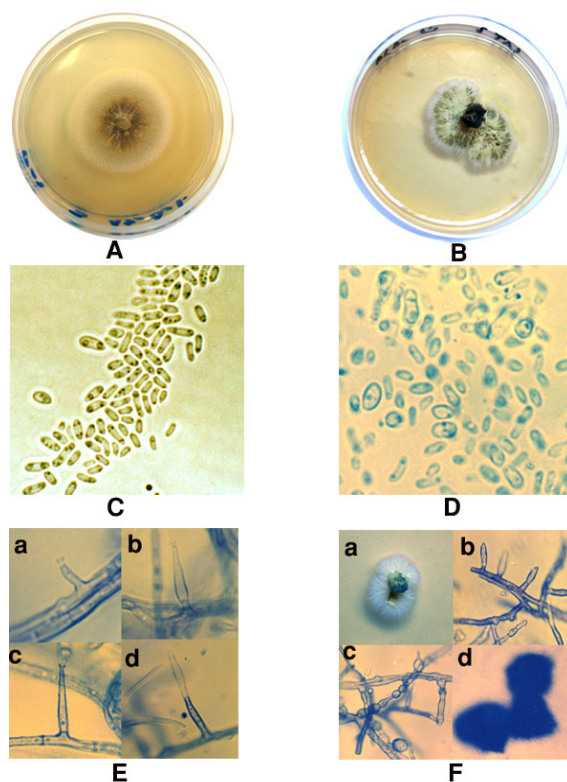
KAVa = Kavar (Akbarabad), KAVd Kavar (Dashtak), SHI = Shiraz, BAVs = Bavanat (Surian), BAV = Bavanat, ABDg = Abadeh(Djavadie), EGH = Eghlid

آزمون بیماری‌زایی

با انجام آزمون بیماری‌زایی (در مورد دو گونه *Phaeoacremonium aleophilum*, *Phaeoacremonium aleophilum*, *Phaeoacremonium aleophilum* 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 برگ‌گی روی قلمه‌ها ظاهر شد که این علائم ابتدا به صورت زردی بین رگبرگ‌ها (شکل ۳-۳) و سپس قرمزی این نواحی و حاشیه برگ‌ها مشاهده گردید (شکل ۳-۳) 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 *Phaeoacremonium aleophilum* به خوبی در محل مایه‌زنی شده فعالیت نموده و قادرند به سمت بالا و پایین این محل نیز پیشرفت کند و علائم قهوه‌ای شدن آن‌ها را به خوبی نشان دادند (شکل ۳-۳) و از نواحی تغییر رنگ یافته نیز جدایه‌های مربوطه مجدداً جداسازی و شناسایی گردید.

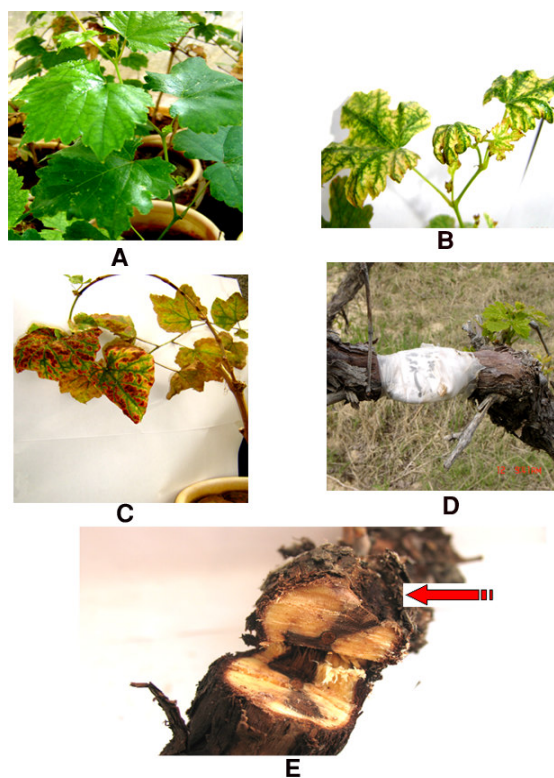
بحث

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



شکل ۲. A، C و E خصوصیات *Phaeoacremonium aleophilum*؛ پرگنه ۱۶ روزه 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 *Phaeoconiella chlamydospora*؛ پرگنه ۲۲ روزه قارچ روی PDA، D، کنیدیوم؛ F، خصوصیات میکروسکوپی و رشد مخمری قارچ (a) رشد مخمری پرگنه ۱۶ روزه روی PDA. b: کنیدیوفور. c: ساختارهای کلایدوسپور 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). *Phaeoconiella 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).



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).

Phaeoacremonium و *Phaeoconiella 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 کشورهای 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 مسقیمی 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 برگگی از اهمیت و ثبات بالاتری برخوردارند چون علائم برگگی از سالی به سال دیگر حتی بر روی یک درخت متفاوت است (Mugnai et al. 1999). در بیشتر باغات آلوده علامت برگگی و علائم تغییر رنگ آوندها مشاهده گردید ولی در مواردی نیز درختانی که به ظاهر دارای برگهایی سالم و فاقد علائم برگگی بودند در برش عرضی تنه علائم تغییر رنگ آوندی را به خوبی نشان می دادند که این امر در اواسط فصل بهار تا اوایل تابستان قابل مشاهده است و این خود نشان دهنده ثبات علائم داخلی (ایجاد رگه های قهوه ای یا سیاه در تنه یا پوسیدگی های مرکزی) نسبت به علائم بیرونی (تغییر رنگ برگها و زوال شاخه ها) است از طرفی می توان علائم برگگی را نتیجه اختلال و تغییر رنگ آوندها دانست و در نتیجه بروز علائم برگگی نیاز به پیشرفت علائم در تنه دارد. در مواردی وجود لکه های قهوه ای یا ارغوانی روی حبه های انگور به عنوان یکی از علائم مشخصه بیماری

اسکا گزارش شده است (Mugnai *et al.*) ولی در باغات نمونه برداری شده طی این مطالعه چنین علائمی به طور 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 برخوردارند 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. ریشه‌ها 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 (Urbez-Torres *et al.* 2006، Phillips 2002 *Botryosphaeria* spp.)، *Acremonium* sp.، گونه‌های مختلف *Phaeoacremonium* (Mostert *et al.* 2006)، *Phaeomoniella chlamydospora* (Crous & Gams 2000، Mugnai *et al.* 1999)، *Cylindrocarpon destructans* (Sweetingham 1983، Rego *et al.* 2000) و *C. obtusisporum* (Scheck *et al.* 1998a)، *Fumitiporia punctata* و *Eutypa lata* (Larignon & Dubos 1997) 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* و *P. subulatum* 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.، *Phaeomoniella chlamydospora*، *Natrassia*

sp., *Phoma* و *P. aleophilum* جداسازی و شناسایی گردید ولی از بیشتر نمونه‌های مورد بررسی *Phaeoacremonium* sp. و *Phaeoconiella chlamydospora* 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 لاریگتون و اسکالن انجام شد نشان داد که اسپور گونه‌های *Phaeoacremonium* و *Phaeoconiella 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 *Phaeoconiella chlamydospora* به صورت هوازاد در طول زمستان و بهار منتشر می‌شوند و در این میان بارندگی‌های اوایل پاییز و اواخر زمستان از اهمیت خاصی برخوردارند (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 *Phaeoconiella 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 آسکوکاری تیپ 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

بیماری را ایجاد نمایند که در شرایط گلخانه‌ای علائم برگ‌گی و در شرایط مزرعه‌ای علائم آوندی به خوبی مشاهده گردید. آزمایشات انجام شده توسط دیگر محققان نیز حاکی از بروز علائم برگ‌گی و آوندی در گیاهان مایه‌زنی شده پس از گذشت شش ماه است (Graniti et al. 2000).

منابع

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

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