

گزارش کوتاه علمی

اولین گزارش از *Diplodia seriata* عامل بیماری شانکر و خشکیدگی شاخه‌های درختان سیب در ایران

FIRST REPORT OF *Diplodia seriata*, THE CAUSAL AGENT OF CANKER DISEASE OF APPLE TREES IN IRAN

سیامک حنیفه^{۱*}، یوبرت قوستا^۲ و سعید عباسی^۳

۱. گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان

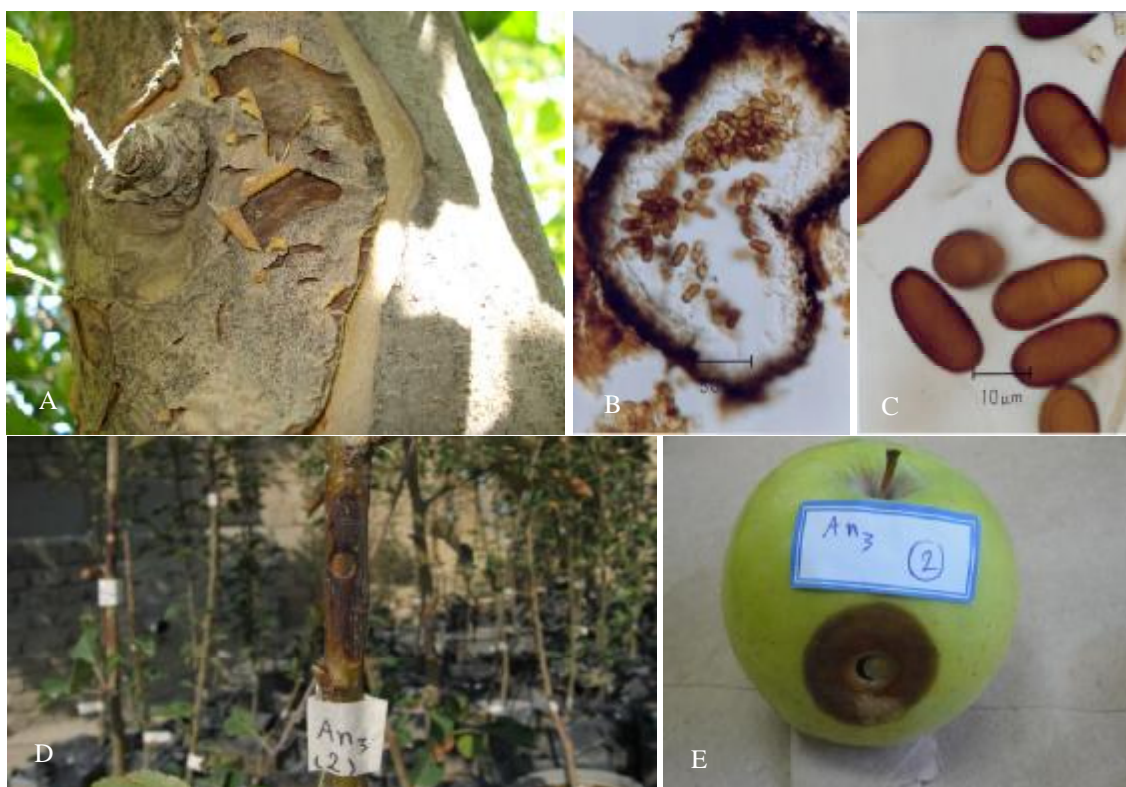
۲. گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۳. گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی کرمانشاه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۱۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۲/۲۹)

طی مطالعه روی عوامل بیماری‌زای شاخه و تنه درختان سیب در باغ‌های زیر کشت این محصول در شهرستان ارومیه، از درختان سیب رقم گلدن با سن بالای ۱۵ سال و با نشانه‌های شانکر در بخش تنه و شاخه‌ها، خشکیدگی شاخه‌ها، پوسته پوسته شدن سطح شاخه‌ها و نیز قهوه‌ای شدن پوست در بخش‌های آلوده (شکل ۱- A)، جدایه‌هایی پیکنیدیوم‌دار به دست آمد. خالص‌سازی جدایه‌های رشد کرده به روش کشت نوک ریشه انجام گرفت. برای القای تشکیل اندام‌های باردهی ابتدا جدایه‌های خالص شده در تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت آب آگار ۲ درصد کشت شدند. سپس سوزن‌های سترون شده کاج در چند محل در سطح محیط کشت قرار داده شدند و تشتک‌های پتری به مدت ۴ هفته در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و در زیر نور نزدیک ماورا بنفش (near-UV) و با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. بعد از گذشت این مدت، پیکنیدیوم‌ها به فراوانی روی سوزن‌های کاج تشکیل شدند (Pavlic et al. 2008).

برای شناسایی، معیارهای مختلف ماکروسکوپی مانند رنگ و خصوصیات ظاهری رشدی پرگنه و مشخصات میکروسکوپی مانند رنگ، شکل و ابعاد هاگ، یاخته‌های هاگ‌زا و پیکنیدیوم مورد مطالعه قرار گرفتند. برای تکمیل شناسایی مورفولوژیک، بخش ITS در یکی از جدایه‌های منتخب، با استفاده از آغازگرهای ITS1 و NL-4 تکثیر و ترادف‌یابی گردید. بر اساس مطالعات ریخت‌شناختی و ترادف‌یابی بخش ITS، گونه *Diplodia seriata* De Not. شناسایی گردید (Phillips et al. 2007). جستجوی بلاست توالی به‌دست آمده با توالی‌های موجود در بانک ژن (NCBI) شباهت ۱۰۰ درصدی آن را با توالی‌های متعلق به گونه *D. seriata* تایید نمود. مشخصات توصیفی گونه به این شرح است: میانگین قطر رشد پرگنه در جدایه‌ها بعد از گذشت ۳ روز برابر ۸۰-۷۵ میلی‌متر بود. بافت پرگنه در ابتدا سفید رنگ، ولی بعد از گذشت سه روز از بخش میانی به رنگ زیتونی متمایل به سبز تا زیتونی خاکستری تغییر یافته و در نهایت بعد از گذشت دو هفته کاملاً سیاه رنگ شد. پرگنه دارای حاشیه منظم و با ریشه‌های هوایی متراکم و فشرده روی محیط کشت بود. کنیدیوماها به صورت پیکنیدیوم، گرد تا بیضی شکل، به قطر تقریبی ۳۸۰ × ۲۶۰ میکرومتر، به طور منفرد یا در دسته‌های چندتایی، به رنگ قهوه‌ای تیره تا سیاه و فرورفته در بافت تشکیل شده و در



شکل ۱. نشانه‌های شانکر و خشکیدگی شاخه درختان سیب رقم گلدن در باغ‌های ارومیه (A)، برش طولی پیکنیدیوم (B) و هاگ‌های (C) گونه *Diplodia seriata* و آزمون اثبات بیماری‌زایی گونه *Diplodia seriata* روی نهال‌ها (D) و میوه (E) سیب رقم گلدن.

Fig. 1. Canker symptoms on stems of apple Golden cultivar in Urmia orchards (A), Longitudinal section of pycnidium (B) and conidia (C) of *Diplodia seriata* and Pathogenicity tests of *Diplodia seriata* on seedlings (D) and fruits (E) of apple Golden cultivar.

هنگام بلوغ کمی شکوفا است (شکل ۱-B). باخته‌های هاگ‌زایی رنگ، صاف، استوانه‌ای شکل، در قسمت پایه متورم و به ابعاد $7-12 \times 5-3$ میکرومتر بودند. هاگ‌زایی در یک سطح با قطور شدگی حاشیه‌ای (Periclinal) و یا به صورت پی‌ریست (Percurrent) و دارای ۲ یا ۳ حلقه بود. هاگ‌ها با دیواره ضخیم، با سطح بیرونی صاف، سطح درونی زگیل‌دار و کاملاً بیضی تا استوانه‌ای شکل، با انتهای گرد و در قسمت پایه به‌طور مشخص تخت و بریده و به‌ندرت گرد بودند. هاگ‌ها ابتدا بی‌رنگ و تک یاخته بوده و سپس قبل از خارج شدن از پیکنیدیوم با تشکیل یک بند عرضی، دو یاخته‌ای می‌شدند و رنگ آنها به قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای تیره تغییر یافت (شکل ۱-C). در برخی موارد، هاگ‌ها بعد از خروج از پیکنیدیوم دارای ۲ یا ۳ بند عرضی بودند. ابعاد هاگ‌ها $(31-)$ $22/02-20/6$ $(12-)$ \times $(12-)$ $9/6-10/05$ $(7/5-)$ میکرومتر و نسبت طول/عرض هاگ برابر $2/2$ بود. اثبات بیماری‌زایی جدایه‌ها، با مایه‌زنی آنها روی نهال‌های دو ساله و نیز میوه سیب رقم گلدن در قالب طرح کاملاً تصادفی به همراه تیمار شاهد انجام گرفت. بعد از گذشت ۸ هفته، تمام نهال‌های مایه‌زنی شده نشانه‌های شانکر و خشک شدن پوست در اطراف محل مایه‌زنی را نشان دادند (شکل ۱-D)، در آزمون بیماری‌زایی روی میوه‌ها، مشخص شد که بعد از گذشت ۶ روز، در اطراف محل مایه‌زنی، نشانه‌ها به صورت پوسیدگی قهوه‌ای تیره با حاشیه کاملاً مشخص و متمایز از بافت سالم ایجاد شد (شکل ۱-E) و در برش عمودی از بافت میوه در محل مایه‌زنی، پیشرفت پوسیدگی به داخل بافت گوشت میوه به‌طور مشخصی مشاهده شد. جداسازی قارچ از نهال‌ها و میوه‌های مایه‌زنی شده مجدداً انجام گرفت. بر اساس بررسی منابع و اطلاعات موجود، این اولین گزارش از وجود و تعیین بیماری‌زایی گونه *D. seriata* مرتبط با شانکر درختان سیب در ایران است.