

## مطالعه بیماری اسکا و پتری انگور در استان کرمان\*

## STUDY OF ESCA AND PETRI DISEASE OF GRAPEVINE IN KERMAN PROVINCE

مریم عرب نژاد و حمید محمدی\*\*<sup>۱</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۶/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱/۳۰)

## چکیده

طی مطالعه‌ای که در سال ۱۳۸۹ به منظور بررسی بیماری پتری و اسکای انگور در استان کرمان صورت گرفت، از باغ‌های مناطق مختلف از جمله خانوک، محی‌آباد، قوام‌آباد، حمیدیه، ماهان، عرب‌آباد، سیرجان، سیرچ، کرمان، بردسیر، جوپار، هوتک، چترود، گلباف، دلفارد و رابر بازدید به عمل آمد. از شاخه و تنه درختان بیمار که دارای علائم خارجی بیماری زوال شامل زرد و قهوه‌ای شدن نواحی بین رگبرگ‌ها، پژمردگی، کاهش رشد، کم‌برگی و سرخشکیدگی و علائم داخلی مانند تغییر رنگ بافت چوب و آوندها در برش عرضی بودند نمونه‌برداری شد. جداسازی عوامل قارچی از نواحی بافت آلوده و با استفاده از محیط کشت‌های PDA (Potato Dextrose Agar) و MEA (Malt Extract Agra) انجام گردید. جدایه‌های به‌دست آمده براساس خصوصیات ریخت‌شناسی و محیط کشت شناسایی شدند. در مجموع ۲۱۶ جدایه قارچ از درختان انگور که علائم زوال را نشان می‌دادند به‌دست آمد که در این میان *Phaeoacremonium aleophilum* (= *Pm. aleophilum*) (۲۰/۸۳٪)، *Phaeomoniella chlamydospora* (= *Pa. chlamydospora*) (۱۱/۱۱٪) و *Pm. parasiticum* (۶/۹۵٪) مهم‌ترین گونه‌هایی بودند که از درختان بیمار جداسازی و شناسایی شدند. در این مطالعه، علائم بیماری اسکا تنها در ۲۸/۵۷ درصد از باغ‌های مورد مطالعه و ۲۳/۲۵ درصد از کل درختان نمونه‌برداری شده مشاهده گردید درحالی‌که علائم مشابه بیماری پتری در ۷۱/۴۳ درصد از باغ‌های مورد مطالعه و ۷۶/۷۵ درصد کل درختان نمونه‌برداری شده دیده شد. براساس نتایج به‌دست آمده بیماری پتری انگور در استان کرمان اهمیت و پراکندگی بیشتری نسبت به بیماری اسکا دارد.

واژه‌های کلیدی: زوال انگور، *Phaeoacremonium spp.*، *Phaeomoniella chlamydospora*

\* بخشی از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد نگارنده اول، ارائه شده به دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان

\*\* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: hmohammadi@uk.ac.ir

۱. به‌ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد و استادیار بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

## مقدمه

کرمان انجام نشده است لذا هدف از انجام این تحقیق بررسی و تعیین پراکندگی دو بیماری پتری و اسکای انگور در نقاط مختلف انگور کاری استان کرمان و هم‌چنین جداسازی و شناسایی گونه‌های قارچی همراه با این دو بیماری است.

## روش بررسی

در طول فصول بهار و تابستان سال ۱۳۸۹ از ۳۵ باغ انگور (با سن ۴ تا ۵۰ سال و از ارقام مختلف انگور مانند عسکری، ریش بابا و سیاه) مربوط به مناطق مختلف استان کرمان (جدول ۱) بازدید به عمل آمد. از شاخه‌ها و تنه اصلی درختان بیمار که دارای علائم خارجی بیماری شامل زردی برگ‌ها، کوتولگی و کاهش فاصله میانگره‌ها، کم‌برگی و علائم داخلی شامل تغییر رنگ بافت چوب و آوندها به اشکال مختلف بود، نمونه‌برداری و جهت جداسازی عامل بیماری به آزمایشگاه منتقل شدند. جهت جداسازی عامل بیماری، از نواحی تغییر رنگ یافته چوب و آوندها قطعاتی به اندازه ۵-۴ میلی‌متر جدا و به مدت دو دقیقه در NaOCl نیم درصد گندزدایی گردید. قطعات سترون شده سه مرحله و هر مرحله به مدت سه دقیقه با آب مقطر سترون شستشو و پس از خشک کردن روی دستمال کاغذی روی محیط کشت عصاره سیب‌زمینی-آگار (PDA) و محیط کشت عصاره مالت-آگار (MEA) حاوی تتراسیکلین (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) قرار داده شدند. تشتک‌های پتری در تاریکی و در دمای C ۲۵ نگهداری و به‌طور روزانه مورد بررسی قرار گرفتند (Rego et al. 2000). شناسایی گونه‌های *Phaeoacremonium* براساس خصوصیات ریخت‌شناسی شامل رنگ پرگنه‌ها، تولید یا عدم تولید رنگدانه زرد در محیط کشت و میزان رشد خطی آنها روی سه محیط کشت PDA، MEA و

امروزه دو بیماری پتری و اسکا، به عنوان مهم‌ترین بیماری‌های شاخه و تنه انگور، از اهمیت خاصی در دنیا برخوردارند. علائم برگ‌گی بیماری اسکا شامل ایجاد لکه‌های سبز روشن و زرد در بین رگبرگ‌ها و حاشیه برگ‌هاست که به تدریج به رنگ زرد قهوه‌ای تا قرمز قهوه‌ای گسترش یافته و ظاهری پوست ببری (Tiger-stripes) در برگ ایجاد می‌کند (Mugnai et al. 1999). علائم این بیماری روی درختان انگور با سن ۸ تا ۱۰ سال و مسن‌تر به‌صورت پوسیدگی نرم اسفنجی بخش‌های داخلی چوب ظاهر می‌شود (Mugnai et al. 1999). بیماری پتری باعث کاهش محصول به خصوص در تاکستان‌های جوان می‌شود (Mugnai et al. 1999; Pascoe & Cottrall 2000). علائم خارجی بیماری پتری به صورت کاهش رشد، کوتاه شدن فاصله میانگره‌ها، کوچک شدن برگ‌ها، ایجاد نقاط و لکه‌های زرد رنگ در نواحی بین رگبرگی و در کل زوال تدریجی و مرگ درخت دیده می‌شود (Sidoti et al. 2000).

علائم داخلی بیماری پتری به صورت ایجاد رگه‌های قهوه‌ای تا سیاه در بافت چوب، تغییر رنگ بافت آوندی و ایجاد نقاط سیاه قابل مشاهده است. گونه‌های مختلف *Phaeoacremonium* W. Gams, Crous & M. J. Wingf. و *Phaeomoniella chlamydospora* (W. Gams, Crous, M.J. Wingf. & L. Mugnai) Crous & W. Gams از هیفومیست‌های مهم بیماری اسکا و پتری انگور محسوب می‌شوند (Mugnai et al. 1999; Edwards & Pascoe 2004). اگر چه در حال حاضر بررسی‌هایی در خصوص زوال مو در ایران انجام شده است ولی تاکنون مطالعه‌ای در خصوص بیماری‌های شاخه و تنه انگور و به خصوص بیماری پتری و اسکا در استان

جدول ۱. محل، تعداد و درصد جدایه‌های قارچی به دست آمده از درختان انگور بیمار در استان کرمان

**Table 1. Geographical origin, number and percentage of fungal isolates recovered from diseased grapevines in Kerman province**

جدایه‌ها Isolates	تعداد Number	درصد* Percentage	محل Location
<i>Phaeoacremonium aleophilum</i>	45	20.83	Mahan, Bardsir, Joupar, Qhavam Abad, Hamidiyeh, Arab Abad, Sirjan, Hootk, Chatroud, Rabor, Dalfard, Kerman, Khanook, Sirch, Golbaf, Mohy Abad
<i>Phaeoacremonium parasiticum</i>	15	6.95	Mahan, Bardsir, Sirjan
<i>Phaeoniella chlamydospora</i>	24	11.11	Joupar, Bardsir, Mahan, Kerman
<i>Phaeoacremonium</i> sp.	4	1.85	Bardsir, Mahan
<i>Phoma</i> sp.	20	9.26	Mahan, Qhavam Abad, Joupar, Golbaf, Chatroud
<i>Paecilomyces</i> sp.	18	8.33	Mahan, Bardsir
<i>Coniothyrium</i> sp.	10	4.63	Mahan
<i>Fusarium</i> sp.	21	9.72	Hamidiyeh, Joupar, Kerman, Bardsir, Mahan, Qhavam Abad,
<i>Alternaria</i> sp.	15	6.95	Joupar, Qhavam Abad, Hamidiyeh, Arab Abad, Sirjan, Hootk, Chatroud, Rabor, Dalfard, Sirch
<i>Aspergillus</i> spp.	21	9.72	Mahan, Bardsir, Joupar, Qhavam Abad, Hamidiyeh, Arab Abad, Sirjan, Hootk, Chatroud
<i>Aspergillus terreus</i>	4	1.85	Mahan, Bardsir, Joupar, Qhavam Abad
<i>Penicillium</i> sp.	19	8.80	Mahan, Bardsir, Sirjan, Kerman, Hamidiyeh, Arab Abad, Hootk, Sirch

\*نسبت به کل جدایه‌های به دست آمده (۲۱۶ جدایه)

\*Based on the total isolates (216 isolates)

ساختار ریشه‌ها، کنیدیوفور، فیالیدها و رشد مخمری جدایه‌ها روی دو محیط کشت PDA و MEA مورد بررسی قرار گرفت. جهت تولید پیکنیدیوم توسط جدایه‌های *Pa. chlamydospora* از محیط کشت آب-آگار دو درصد حاوی قطعات اتوکلاو شده چوب انگور یا برگ میخک (Carnation Leaf Agar =CLA) استفاده شد. به منظور مشاهده و بررسی علایم بیماری پتری (Black goo) برش‌های عرضی و طولی از شاخه و تنه درختان آلوده تهیه و در شیشه‌های سر بسته (حاوی پنبه مرطوب) و شرایط تاریکی نگهداری گردید.

OA (Oatmeal Agar) مورد بررسی قرار گرفت. جهت مطالعه ساختارهای میکروسکوپی جدایه‌ها، از ریشه‌های هوایی تولید شده روی محیط کشت MEA (کشت‌های ۱۶ روزه) استفاده گردید و ساختارهای میکروسکوپی مانند طناب‌های میسلیمی، کنیدیوفور (طول و ساختار آن)، فیالیدها (نوع فیالید، طول و فراوانی آنها)، وجود زگیل و اندازه آنها و شکل و اندازه اسپورها مورد ارزیابی قرار گرفت (Crous et al. 1996; Mostert et al. 2006). خصوصیات ریخت‌شناسی، محیط کشت و خصوصیات میکروسکوپی جدایه‌های *Pa. chlamydospora* مانند

## نتایج و بحث

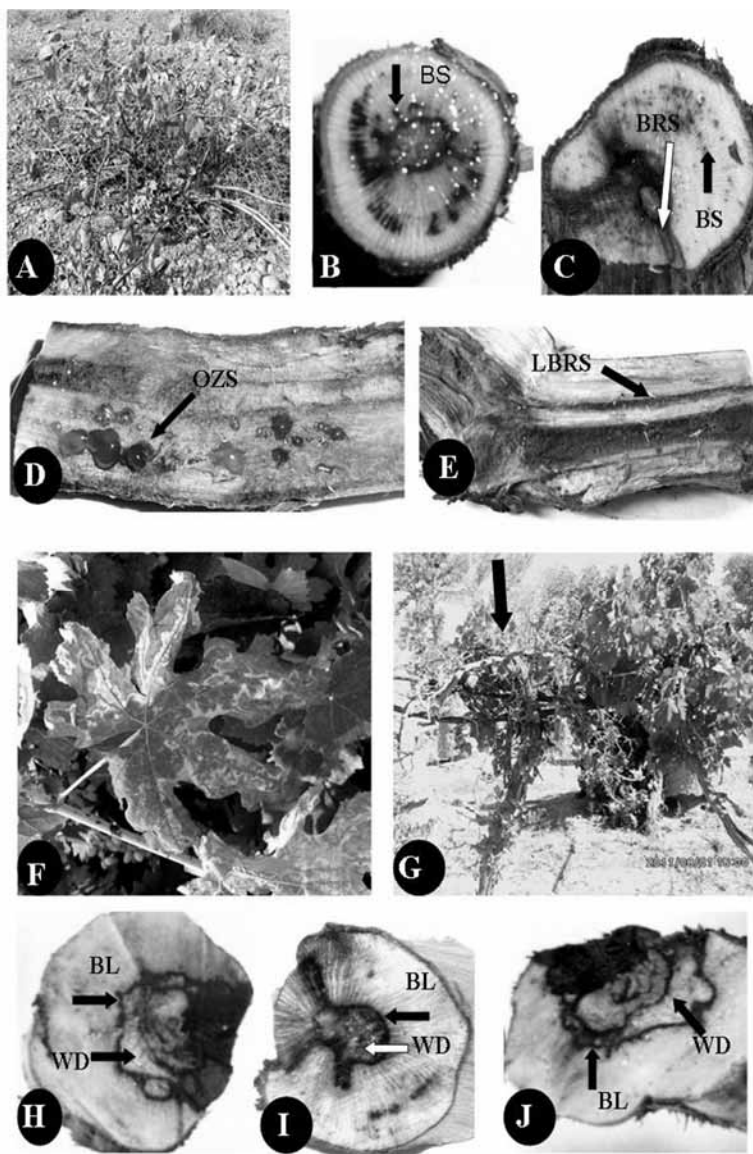
در این بررسی از ۳۵ باغ و ۱۲۹ درخت انگور با سن ۴ تا ۵۰ سال نمونه‌برداری گردید. در بیشتر باغ‌های مورد بررسی، علائم بیماری به صورت زردی برگ‌ها، کم‌رشدی، کاهش برگ‌دهی (شکل ۱-۱) و در نهایت خشک شدن کامل درختان آلوده به خصوص در انگورهای جوان (چهار تا ۱۰ سال) دیده شد. یکی از علائم داخلی که در برش عرضی از شاخه‌های آلوده دیده شد وجود نقاط کوچک به صورت پراکنده یا گروهی بود که در برش طولی به صورت رگه‌هایی قهوه‌ای تا سیاه رنگ به موازات بخش مرکزی دیده می‌شد (شکل ۱-۱، B، C و E) چنین علائمی به عنوان علائم بیماری پتری انگور از کشورهای مختلف دنیا و ایران گزارش شده است (Scheck *et al.* 1998; Mugnai *et al.* 1999; Mohammadi 2008).

درحالی‌که علائمی مشابه با بیماری اسکا تنها در بردسیر، جوپار، ماهان، سیرجان، دلفار و محی آباد دیده شد که علائم خارجی به صورت وجود نقوش پوست ببری بر روی برگ‌ها بود (شکل ۱-۱، F) و با برش عرضی از شاخه‌های آلوده بخش مرکزی شاخه‌ها دارای پوسیدگی سفید تا کرم رنگ بودند (شکل ۱-۱، H-J).

علائم سکنه مو (خشک شدن ناگهانی درخت به صورت سبز-خشکی در طول تابستان) تنها در محی آباد (در اوایل مرداد ماه) بر روی یک درخت ۵۰ ساله انگور از رقم عسکری دیده شد (شکل ۱-۱، G). براساس نتایج به‌دست آمده در این مطالعه تنها در ۱۰ باغ از ۳۵ باغ یعنی ۲۸/۵۷ درصد از باغ‌های نمونه‌برداری شده علائم بیماری اسکا دیده شد که در کل ۲۳/۲۵ درصد از کل درختان نمونه‌برداری شده (۳۰ درصد از ۱۲۹ درخت) را شامل می‌شود درحالی‌که در ۲۵ باغ از ۳۵ باغ نمونه‌برداری شده (۷۱/۴۳ درصد) و ۹۹ درخت (۷۶/۷۵ درصد کل درختان

نمونه‌برداری شده) علائم بیماری پتری مشاهده گردید. علائم مشابه با بیماری پتری بیشتر در درختان کمتر از ۱۰ سال و بیشتر روی رقم عسکری دیده شد درحالی‌که علائم بیماری اسکا بیشتر در درختان مسن (۱۰ تا ۵۰ سال) مشاهده گردید. اگر چه نقش رطوبت و نزولات آسمانی در بروز علائم بیماری اسکا چندان مشخص نیست ولی تصور می‌شود که در سال‌هایی که بارندگی بیشتر است میزان بیشتری از فیتوتوکسین‌ها به برگ‌ها منتقل می‌شوند (Marchi *et al.* 2006) در نتیجه علائم مشخصه بیماری اسکا بیشتر در مناطق انگورکاری دیده می‌شود که میزان بارندگی سالیانه آنها بیش از ۶۰۰ میلی‌متر در سال باشد (Pearson & Ghoen 1988) که مسلماً چنین شرایطی در استان کرمان دیده نمی‌شود.

از طرفی مطالعات نشان داده است که علائم بیماری اسکا در مناطقی که دارای آب و هوای خنک و سرد هستند بهتر دیده می‌شود و در فصول گرم و خشک سال این علائم به صورت نهفته (اسکای نهفته) باقی می‌مانند (Marchi *et al.* 2006) و از آنجایی که استان کرمان به عنوان یکی از استان‌های جنوب کشور دارای آب و هوایی نسبتاً گرم و خشک است حتی با وجود بیماری اسکا ممکن است علائم آن به خوبی ظاهر نشود. در مطالعه‌ای که طی سال‌های ۱۹۹۸ تا ۲۰۰۲ در استرالیا انجام شد ۸۲ درصد درختان انگور مورد مطالعه دارای علائم بیماری پتری بودند و تنها ۱۸ درصد از درختان علائم مشخصه بیماری اسکا را نشان دادند هر چند که در این مطالعه *Pa. chlamydospora* نسبت به *Pm. aleophilum* فراوانی بیشتری از درختانی که دارای علائم بیماری پتری بودند جداسازی گردید (Edwards & Pascoe 2004). در مطالعه حاضر، ۲۱۶ جدایه قارچ از نمونه‌های بیمار جداسازی و شناسایی گردید و از این تعداد ۴۵ جدایه



شکل ۱. علائم بیماری پتری (A-D) و اسکای انگور (F-J) در استان کرمان. A- علائم کاهش رشد، زوال تدریجی و سرخشکیدگی. B- وجود نقاط سیاه رنگ در برش عرضی از یک شاخه آلوده. C- وجود رگه‌های قهوه‌ای رنگ و نقاط سیاه رنگ در برش عرضی. D- ترشحات اوز در برش طولی از یک شاخه آلوده. E- رگه‌های قهوه‌ای رنگ به موازات محور مرکزی شاخه (LBRS) در برش طولی که در برش عرضی به صورت نقاط سیاه رنگ دیده می‌شود. F- علائم برگ‌گی بیماری اسکا به صورت بروز لکه‌های زرد و قرمز رنگ در برگ (نقش پوست ببری). G- پژمردگی و مرگ ناگهانی کل یک درخت در اثر سکتته مو. H-J- علائم پوسیدگی چوب (WD) که توسط خطوط و رگه‌های ضخیم (BL) احاطه شده‌اند.

**Fig.1. Symptoms associated with Petri disease (A-D) and esca (F-J) in Kerman province. A - A plant with stunted growth, slow decline and dieback symptoms. B - Black spots (BS). C - Co-occurrence of brown streakings (BRS) and black spots in cross section. D - oozing of black sap in longitudinal section of an affected branch. E - Longitudinal brown streakings (LBRS) that appear as necrotic black spots in cross sections. F - Foliar symptoms of esca characterized by the interveinal necrosis and chlorosis (tiger stripes). G. Sudden wilting and death of entire vine due to apoplexy. H-J - wood decay (WD) surrounded by a thick black line (BL).**

شده و با کارگیری کلیدهای شناسایی موجود (Mostert et al. 2006) این جدایه‌ها *Pm. parasiticum* تشخیص داده شدند. در این بررسی ۲۴ جدایه از درختان انگور بیمار و از مناطق جوپار، بردسیر، ماهان و کرمان جداسازی گردید که در مراحل اولیه، دارای رشد مخمری و سطحی براق بودند ولی به تدریج رنگ کرم تا سفید پرگنه آنها به رنگ سبز زیتونی تغییر پیدا کرد. این جدایه‌ها روی محیط کشت آب-آگار دو درصد حاوی قطعات برگ میخک و چوب انگور اتوکلاو شده پس از حدود یک ماه پیکنیدیوم‌های سیاه و براق شبیه به پیکنیدیوم‌های *Phoma* تولید کردند و با توجه به کلید شناسایی (Crous & Gams 2000) این جدایه‌ها *Pa. chlamydospora* تشخیص داده شدند. قطعات چوب تنه و شاخه‌های درختان آلوده که در شیشه‌های در بسته نگهداری شده بودند به مدت ۶۰ روز بررسی شدند.

پس از حدود ۲۵ روز ترشحات نارنجی تا عسلی رنگی در سطوح برش زده قطعات آلوده ظاهر شد که به تدریج و پس از ۳۵ روز به رنگ قهوه‌ای تیره مشاهده شد (شکل ۱- D). چنین علائمی به عنوان یکی از علائم بیماری پتری (Black goo) در نظر گرفته می‌شود (Morton 1995). از کل جدایه‌های به‌دست آمده *Pm. aleophilum* با ۴۵ و *Aspergillus terreus* با چهار جدایه به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین فراوانی بودند (جدول ۱). در بیشتر موارد جدایه‌هایی از *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Phoma* sp. از *Fusarium* sp. و *Alternaria* sp. از قطعات بافت آلوده کشت داده شده جداسازی گردید. در این مطالعه دو گونه *Pm. aleophilum* و *Pa. chlamydospora* به‌ترتیب با ۲۰/۸۳ و ۱۱/۱۱ درصد بیشترین فراوانی را نشان دادند که در این میان *Pm. aleophilum* نسبت به *Pa. chlamydospora*

مربوط به جنس *Phaeoacremonium* بود که از درختان بیمار با علائم مختلف داخلی و به‌خصوص نقاط سیاه رنگ و بافت نکروز چوب در شاخه و تنه جداسازی گردید. پرگنه این جدایه‌ها بر روی محیط کشت PDA در ابتدا به رنگ سفید یا شیری رنگ و پس از ۱۶ روز به رنگ گندمی یا قهوه‌ای کمرنگ با بافتی متراکم و بر روی محیط کشت MEA، قهوه‌ای مایل به زرد یا قهوه‌ای کمرنگ بود. جدایه‌های مذکور معمولاً بعد از ۱۶ روز در محیط کشت PDA، MEA و OA رنگدانه زرد مشخصی تولید می‌کردند. از نظر میکروسکوپی، میسلیم به‌صورت انفرادی یا در گروه‌های چند تایی، ساختار کنیدیوفور اغلب کوتاه و غیر منشعب، فیالید به‌طور غالب نوع دو و سه، کنیدیوم‌ها سیلندری تخم‌مرغی و کلیه‌ای شکل و ریشه دارای زگیل‌های کوچک بود. براساس خصوصیات مشاهده شده و با کارگیری کلیدهای شناسایی موجود (Mostert et al. 2006) جدایه‌های مذکور *Pm. aleophilum* تشخیص داده شدند. در این مطالعه ۱۵ جدایه *Phaeoacremonium* (۶/۹۵ درصد کل جدایه‌های به‌دست آمده) از رگه‌های قهوه‌ای و نقاط سیاه رنگ در شاخه‌های آلوده و از ماهان، بردسیر و سیرجان جداسازی گردید.

این جدایه‌ها روی محیط کشت PDA، ظاهری خشن و ریشه‌های هوایی برجسته و بلند تولید کردند و برخلاف جدایه‌های *Pm. aleophilum* فاقد رنگدانه زرد رنگ روی محیط کشت‌های مورد استفاده بودند. روی ریشه‌ها برجستگی‌هایی قطره مانند به‌صورت زگیل‌های (Wart) بزرگ دیده می‌شد که قطری بیش از سه میکرون داشتند. کنیدیوفورهای این جدایه‌ها بلند و منشعب بود و فیالیدهای نوع سوم در این گونه فراوانی بیشتری نسبت به نوع اول و دوم داشتند که براساس خصوصیات گفته

متفاوتی بودند که جهت تشخیص دقیق و نهایی نیاز است که براساس خصوصیات مولکولی مورد بررسی بیشتر قرار بگیرند.

#### منابع

جهت ملاحظه به صفحات (96-95) متن انگلیسی مراجعه شود.

و *Pm. parasiticum* دارای فراوانی و پراکندگی بیشتری در استان کرمان است که نتایج مشابهی نیز قبلا از ایران (Mohammadi 2008)، اسپانیا (Armengol et al. 2001)، آرژانتین (Dupont et al. 2002) و استرالیا (Pascoe & Cottral 2000) نیز گزارش شده است. در این مطالعه چهار جدایه *Phaeoacremonium* از ماهان و بردسیر جداسازی گردید که نسبت به دو گونه *Pm. aleophilum* و *Pm. parasiticum* دارای پرگنه‌های