

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). علائم بیماری اسکا به دو صورت مزمن و حاد قابل مشاهده است. در حالت مزمن، علائم 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)، نکرورسولول‌های 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 علائم برگ‌های اسکا وجود لکه‌های سبز روشن مدور یا نامنظم در بین رگبرگ‌ها یا

در طول حاشیه برگ‌هاست که با تغییر رنگ لکه‌های برگ‌ها به زرد، قرمز و قهوه‌ای، نقوشی شبیه پوست پلنگ (Tiger strips) در برگ ایجاد می‌شود (Mostert et al. 2006 b). علائم 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 سکنه 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 علائم پوسیدگی سفید انگور جداسازی شده است (Serra et al. 2000). *F. mediterranea* M. Fischer یک بازیدیومیست مربوط به راسته *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)

(Pascoe & Cottral 2000). فرم جنسی *Phaeoacremonium* پیرنومیست *Togninia* است که ابتدا در راسته *Calosphaerales* طبقه‌بندی شد اما بررسی‌های فیلوژنتیکی DNA نشان داد که این جنس مربوط به راسته *Diaporthales* می‌باشد (Mostert et al. 2006a).

بیماری اسکا در ایران ابتدا در سال ۲۰۰۱ از بجنورد (خراسان شمالی) توسط کریمی و همکاران (Karimi et al. 2001) گزارش شد. در مطالعات انجام شده در استان فارس گونه‌های *Pm. aleophilum*، *P. chlamydospora*، *Phaeoacremonium* sp.، *Phoma* sp.، *Fusarium* sp. و *Natrasia* sp. از موهای دارای علایم زوال جداسازی شدند (Mohammadi & Banihashemi 2007). بنی هاشمی و همکاران (Banihashemi et al. 2009) گونه‌های *P. chlamydospora* و *Pm. aleophilum* (جدا شده از موهای دارای علایم بیماری اسکا و بیماری پتری) و با فراوانی کمتر *Pm. inflatipes* و *Pm. parasiticum* (جدا شده از موهای دارای علایم پتری) را از درختان انگور با علایم زوال در ایران براساس خصوصیات مورفولوژی و مولکولی (PCR- RFLP و beta- tubulin genes) و شناسایی و گزارش کردند. بیماری اسکا می‌تواند باعث زیان‌های مهم اقتصادی ناشی از دوباره کاری و کاهش محصول در تاکستان‌ها شود (Fischer 2006). مطالعه حاضر با هدف بررسی بیماری اسکا، جداسازی و شناسایی عوامل قارچی همراه با این بیماری و مطالعه بیماری‌زایی جدایه‌های به دست آمده انجام شده است.

روش بررسی

نمونه برداری

در فصول زراعی ۱۳۸۶-۱۳۸۴ از ۲۹ باغ انگور در ناحیه بدرانلو از توابع شهرستان بجنورد (مرکز استان خراسان

و آسیا (هند و ایران) گزارش شده است و علاوه بر انگور از افرا، کیوی، زغال اخته، فندق، زیتون، بلوط و اقاچیا گزارش شده است (Fischer 2006).

از قارچ‌های غیربازیدیومیستی که از بافت چوب‌های تغییر رنگ یافته در انگورهای بیمار جدا شده است می‌توان به آسکومیست‌های *Eutypa lata* (Per.: Fr.) Tul. & C. Tul. و *Botryosphaeria obtusa* (Schewin.) Shoemaker اشاره کرد. گونه‌های *Phaeoacremonium* به عنوان یک هیفومیست به فراوانی از نواحی تغییر رنگ یافته چوب در انگورهای بیمار از بیشتر نقاط موکاری گزارش شده است. *Phaeoacremonium* با ۶ گونه در سال ۱۹۹۶ توسط کروس و همکاران (Crous et al. 1996) توصیف گردید که دارای گونه‌های بیماری‌زای گیاهی و انسانی می‌باشد (Whiting et al. 2001). تاکنون ۳۱ گونه *Phaeoacremonium* توصیف شده است که حدود ۲۴ گونه آن از انگور جداسازی شده است که در این میان به نظر می‌رسد *Phaeoacremonium aleophilum* فراوانی بیشتری در انگور دارد (Mostert et al. 2006b). مطالعات نشان داد که *Pm. chlamydosporum* مربوط به راسته *Chaetothyriales* و خانواده *Herpotrichiellaceae* است (Dupont et al. 2000, Rooney et al. 2005) و در نهایت با انجام مطالعات مولکولی این گونه در جنس جدید *Phaeomoniella* و گونه *P. chlamydospora* معرفی شد (Crous & Gams 2000). این گونه در محیط کشت تولید ساختارهای کلامیدوسپور مانند می‌کند که با نگهداری چوب انگور در محیط مرطوب پس از ۳-۴ هفته، پیکنید یوم‌های سیاه رنگ کوچکی تولید می‌کند. پیکنیدیوسپورها نقش کنیدیومی داشته و با هیچ جنس سیلومیستی مشابه نبوده و آن را به عنوان سین‌آنومورف *P. chlamydospora* در نظر گرفته‌اند

شمالی) نمونه برداری به عمل آمد. نمونه برداری‌ها از تیرماه تا اواخر تابستان و در چندین مرحله از تنه و شاخه‌های درختان انگور دارای علائم بیماری اسکا شامل تغییر رنگ برگ‌ها به شکل پوست پلنگی و درختان مبتلا به سکه 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 $0.5 \times 0.5 \times 0.5$ سانتی‌متر تهیه گردید. قطعات به مدت ۳-۵ 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. تشک‌های پتری در دمای 25°C نگهداری و روزانه مورد بررسی قرار گرفتند.

شناسایی جدایه‌ها

جدایه‌های به دست آمده 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 ریشه، طول و عرض کنیدیوفورها، فیالیدها، کنیدیوم‌ها و یقه 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 دما 40°C - 15°C (با فواصل 5°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، یقه قیفی شکل انتهای فیالیدها و قطر کلامیدوسپورها نیز جهت شناسایی جدایه‌های *Phaeomoniella* استفاده شد (Crous & Gams 2000). جهت مطالعه خصوصیات میکروسکوپی از ریشه‌های حاشیه پرگنه استفاده شد و برای هر خصوصیت ۱۰۰ عدد اندازه‌گیری انجام شد.

آزمون بیماری‌زایی

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

نتایج

نمونه برداری و علائم بیماری

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

۲-۵/۰ میکرومتر (میانگین ۲ میکرومتر) بودند. تمام فیالیدها در انتها به یک یقه کیفی شکل بسیار باریک ختم می‌شدند که طول آن ۲-۱ میکرومتر (میانگین ۱/۶ میکرومتر) و عرض آن ۲-۵/۰ 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 (شکل ۲-A, D, F). دمای کمینه، بهینه و بیشینه پرگنه به ترتیب 15°C ، 30°C و 40°C و میزان رشد پرگنه در دمای 25°C (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 ۶/۵ 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 به ترتیب 15°C ، 25°C و 35°C و رشد شعاعی پرگنه در دمای 25°C (شرایط تاریکی و پس از ۸ روز) ۱۶ میلی‌متر ارزیابی شد (شکل ۲-C, E, G).

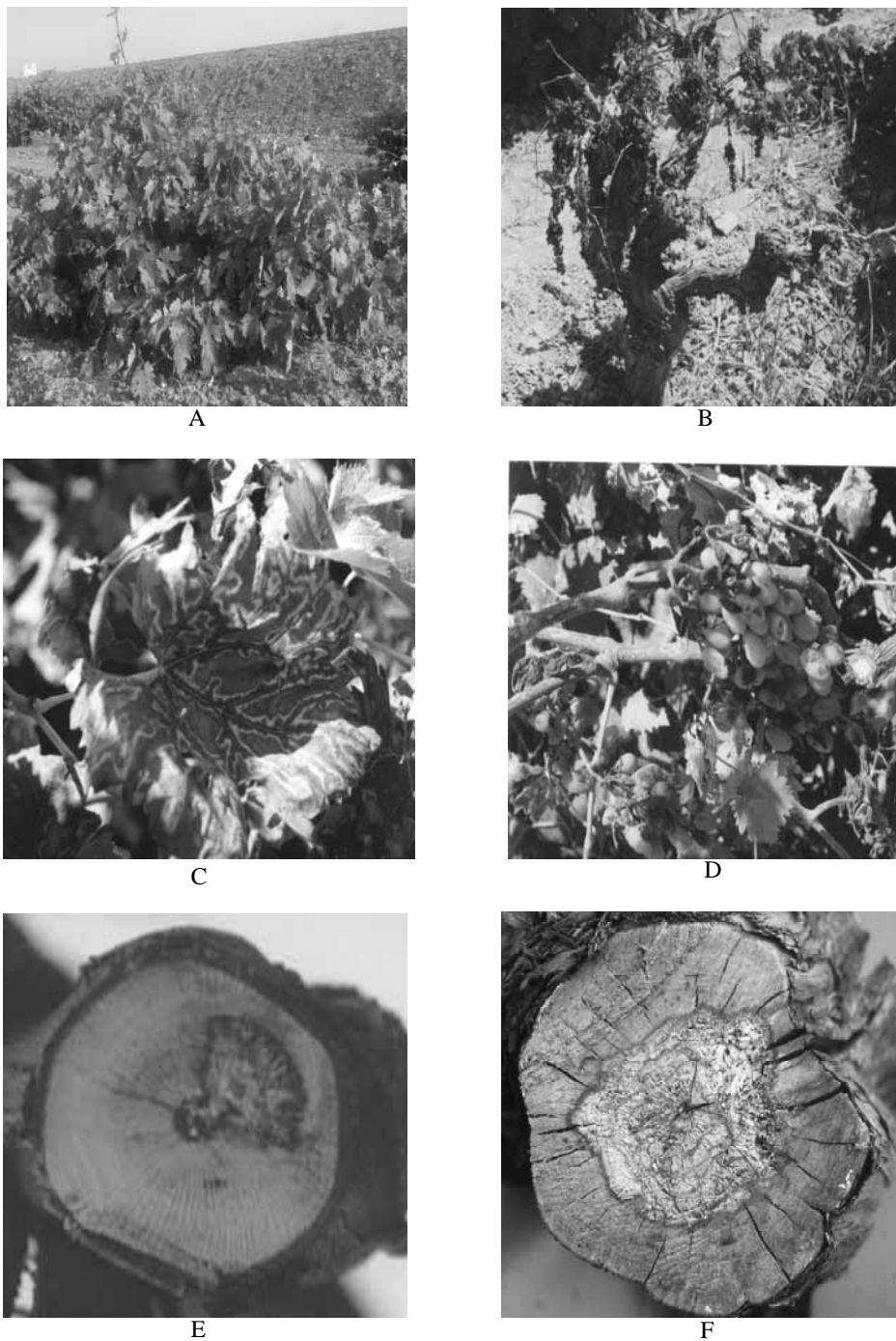
برش عرضی از شاخه و تنه درختان آلوده پوسیدگی سفید اسفنجی چوب و قهوه‌ای شدن بافت آوندی به عنوان علایم داخلی قابل مشاهده بود. در اواسط تابستان نیز علایمی شبیه به سکتته مو یا زوال ناگهانی در برخی درختان مشاهده گردید که در این حالت درختان آلوده به‌طور کامل خشک شده بودند (شکل ۱). علایم بیماری اسکا اغلب در 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.

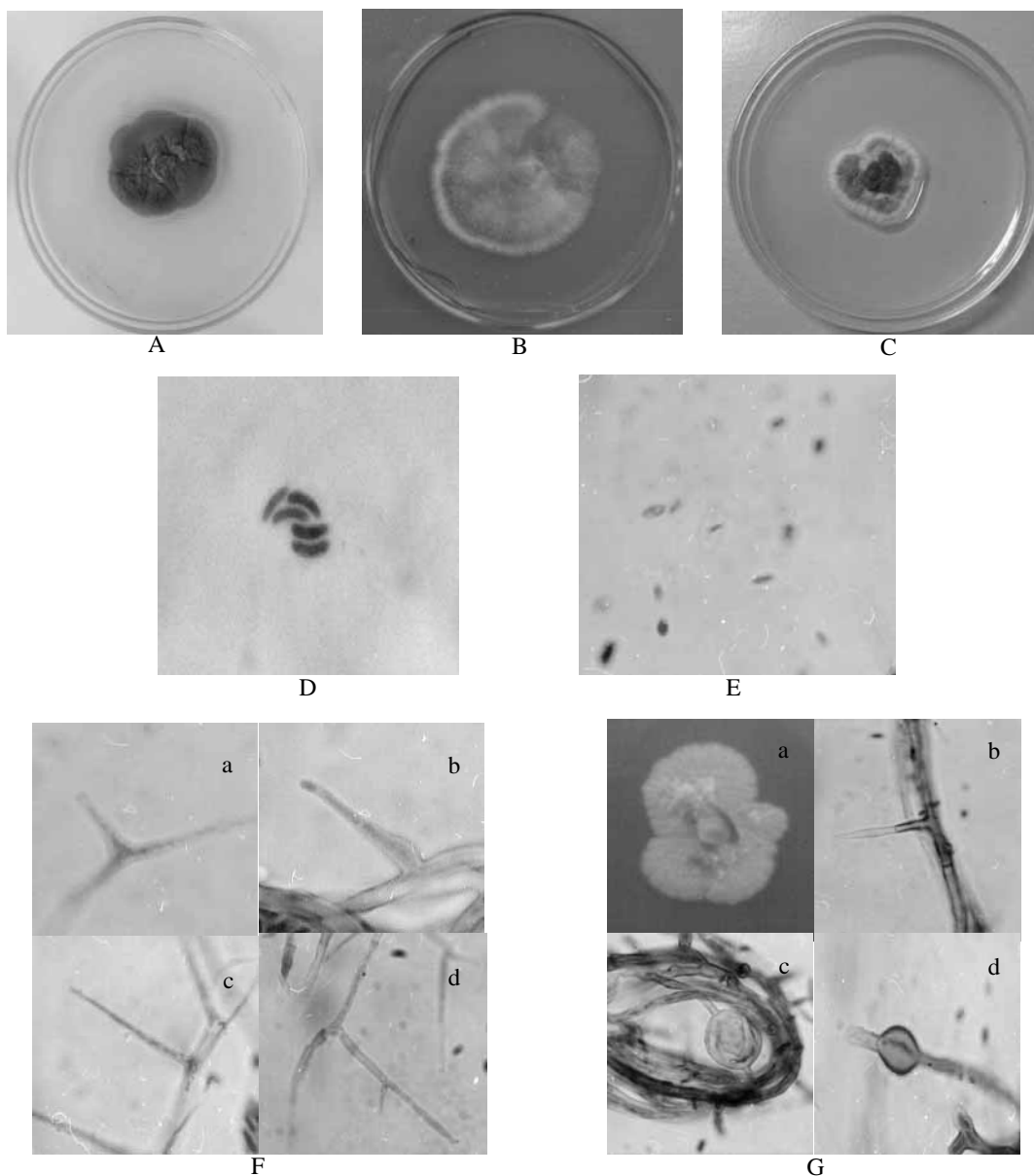
خصوصیات *Phaeoacremonium parasiticum*

ریسه دارای زگیل‌هایی به قطر ۴-۲ میکرومتر بود، کنیدیوفورها به طول ۱۴۸-۱۸ میکرومتر (میانگین ۷۶ میکرومتر) و عرض ۵/۳-۱ میکرومتر (میانگین ۱/۵ میکرومتر) 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 ۵/۱-۵/۰ 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 ۳۷-۱۱ میکرومتر (میانگین ۲۱/۵ میکرومتر) و عرض



شکل ۱. علائم داخلی و خارجی بیماری اسکای مو: A: درخت سالم B: علائم سکنه مو C: علائم برگ‌گی D: علائم روی جبهه‌ها E: علائم قهوه‌ای شدگی بافت در برش عرضی از شاخه‌های درختان بیمار F: علائم 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).



شکل ۲. A، D و F خصوصیات *Phaeoacremonium parasiticum*؛ A، پرگنه ۱۶ روزه قارچ روی PDA، D، کنیدیوم؛ B، پرگنه ۱۰ روزه مخمری پرگنه ۱۰ روزه روی PDA؛ b: فیالید، c: فیالید تیپ III، d: کنیدیوفور. C، E، G خصوصیات *Phaeomoniella chlamydospora*؛ C، پرگنه ۱۶ روزه قارچ روی MEA، E، کنیدیوم؛ G، خصوصیات میکروسکوپی و رشد مخمری قارچ (a: رشد مخمری پرگنه ۱۰ روزه روی PDA، b: فیالید، c و d: ساختارهای شبه کلایدوسپور). F، خصوصیات میکروسکوپی (a: فیالید تیپ I، b: فیالید تیپ II، c: فیالید تیپ III، d: کنیدیوفور) و خصوصیات *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).

خصوصیات *Fomitiporia mediterranea*

در این تحقیق ۱۸ جدایه از شاخه‌هایی که دارای علائم 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 به ترتیب 15°C ، 25°C و 40°C و رشد شعاعی پرگنه در دمای 25°C (شرایط تاریکی و پس از ۸ روز) ۲۸ میلی‌متر ارزیابی شد. جدایه‌ها به مؤسسه تحقیقاتی در ایتالیا ارسال و براساس خصوصیات مولکولی (ناحیه ITS ریبوزومی) به عنوان *F. mediterranea* شناسایی شدند (شکل ۲-B).

آزمون بیماری‌زایی

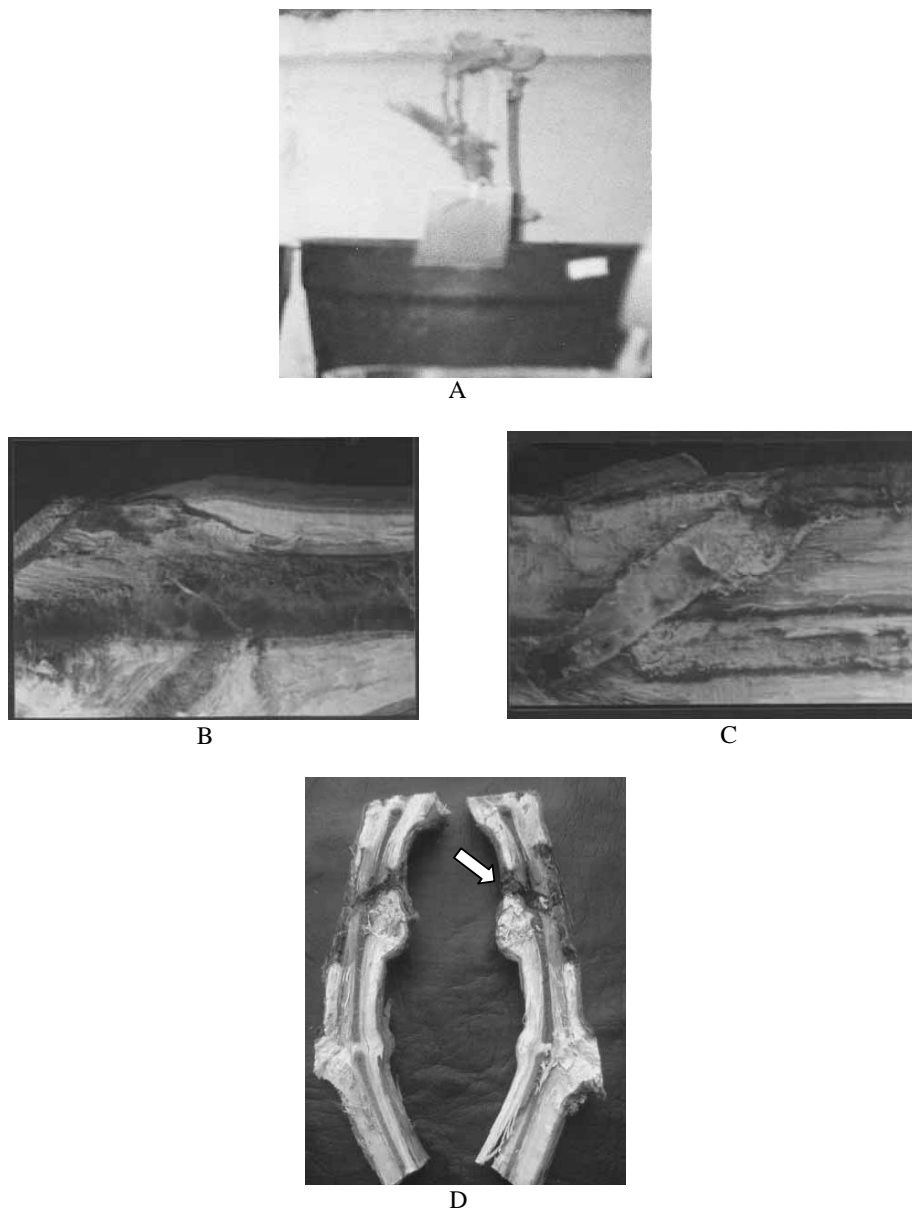
نتایج حاصل از آزمون بیماری‌زایی در شرایط گلخانه‌ای و ۶ ماه پس از مایه‌زنی به صورت زردی و خشکیدگی قلمه‌ها مشاهده شد (شکل ۳-A). در شرایط مزرعه‌ای *P. chlamydospora* و *Pm. parasiticum* باعث ایجاد تغییر رنگ بافت چوب و *F. mediterranea* باعث پوسیدگی سفید چوب در شاخه‌های مایه‌زنی شده گردید (شکل ۳-B, C, D). 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 به ترتیب ۲۰، ۱۱، ۱۵ و ۱۹ درصد تخمین زده شده است. در ایتالیا این بیماری در تمام نواحی پرورش انگور دیده می‌شود و شدت آن سالیانه در تاکستان‌های ۱۵-۲۵ ساله

حدود ۵۰-۱ درصد می‌باشد (Mugnai et al. 1999). بیماری اسکا بیشتر در نواحی مدیترانه‌ای اهمیت دارد، به طوری که 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.

علائم بیماری اسکا در بیشتر باغات این ناحیه به‌ویژه باغ‌های قدیمی دیده شد. مطالعه بیماری اسکا نشان داده است که علائم این بیماری با توجه به خصوصیات فیزیولوژیکی و ساختاری بسیار متغیر است. ظهور علائم 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 علائم برگ‌ها 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. علائم حاد بیماری به شکل سکنه و خشکیدن ناگهانی انگور در تابستان در بیشتر باغات دیده شد. مطالعات نشان داده است که علائم بیماری اسکا روی برگ‌ها و حبه‌ها همه ساله به‌طور مستمر قابل مشاهده نیست (Mugnai et al. 1999).



شکل ۳. علایم بیماری حاصل از *Phaeoacremonium parasiticum*, *Phaeoconiella chlamydospora* و *Fomitiporia mediterranea* در گلخانه (A) و مزرعه (B,C,D) و ۶ ماه پس از مایه‌زنی. A: علایم زردی و خشکیدگی قلمه‌های مایه‌زنی شده با *Phaeoacremonium parasiticum* در مزرعه. B: رشد میسلیم *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 *Phaeoconiella chlamydospora* در شرایط مزرعه.

Fig. 3. Disease symptoms of grapevine inoculated with *Phaeoacremonium parasiticum*, *Phaeoconiella chlamydospora* and *Fomitiporia mediterranea* in the greenhouse (A) and field (B,C,D) after 6 months, defoliation 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 *Phaeoconiella chlamydospora* in the field (D).

گونه‌های *Pm. Parasiticum*، *Pm. aleophilum*، *Neofusicum*، *Diplodia seriata*، *P. chlamydospora*، *Phoma* sp.، *Cylindrocarpon liriodendr parvum*، *Acremonium* گونه‌های *Phialophora* و گونه‌های از انگوره‌های دارای علایم مختلف زوال موجداسازی و گزارش شده است (Mohammadi et al. 2008). در مطالعه حاضر از انگوره‌های دارای علایم بیماری اسکا، جدایه‌های *P. chlamydospora*، *Pm. parasiticum*، *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. 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. اثر تولید تیلوز باعث تیرگی آوندهای چوبی و در نهایت انسداد آن می‌شوند (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).

اگرچه تاکنون قارچ‌های مختلفی همراه با انگوره‌های آلوده به اسکا گزارش شده است ولی در این میان بازیدیومیست‌های پوساننده چوب مانند *F. punctata*، *E. lata* و قارچ‌های هیفومیستی مانند *P. chlamydospora* و *Pm. aleophilum* و به مقدار کمتر *Pm. angustius* و *Pm. inflatipes* از اهمیت بیشتری برخوردارند. این گونه‌ها با فراوانی بالا از قسمت‌های تغییر رنگ یافته چوب انگوره‌های 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 بازیدیوکارب *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 مرده 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 *P. chlamydospora*، *Pm. aleophilum*، *Pm. parasiticum* را می‌توان نام برد (Grafenhan & Gams 2004).

شرایط گلخانه‌ای و مایه‌زنی زخم‌های ایجاد شده روی ساقه و تنه مو با قرص میسلیمی قارچ و سوسپانسیون اسپور در شرایط مزرعه‌ای؛ پس از ۹ ماه علایم برگ‌گی و تغییر رنگ آوندی را مشاهده کردند. در این بررسی آزمون بیماری‌زایی برای قارچ‌های *Pm. parasiticum*، *P. chlamydospora* و *F. mediterranea* 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 برگ‌گی 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 (47-49) متن انگلیسی مراجعه شود.

اسپوره‌های *P. chlamydospora* احتمالاً از پیکنیدیوم روی شاخه‌های انگور آزاد می‌شوند. اسپوره‌های *Pm. aleophilum* معمولاً در اوایل تا نیمه 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 فهوه‌ای آوندی را در محل مایه‌زنی گزارش کردند. گرانتی 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