

## First Report of *Cytospora* Shoot Dieback on *Oriental hornbeam* (*Carpinus orientalis* Mill.) in Iran

Seyedeh Masoomeh Zamani<sup>1\*</sup>, Narges Sepas<sup>2</sup>, Yazdanfar Ahangaran<sup>3</sup>, Hossein Lazarboni<sup>4</sup> and Ebrahim Zarghani<sup>5</sup>

- 1\* - Corresponding author, Assistant Professor, Research Institute of Forests and Rangeland, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.  
2- Research Expert, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.  
3- MSc, Natural Resources and Watershed Management Organization.  
4- MSc, Natural Resources Office, Mazandaran Province- Nowshahr, Iran.  
5- Assistant Professor, Botanical Garden of Noshahr, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran<sup>5</sup>

Received: 13.12.2023

Accepted: 17.03.2024

### Abstract

**Background and objectives:** *Carpinus orientalis* Mill is a native tree growing in the forests of northern Iran. This tree-shrub plant is shorter and more branched compared to hornbeam (*Carpinus betulus* L.) and thrives in sunny and rocky areas. The *Cytospora* genus is known as a primary agent of canker, causing damage to trees affected by stress factors such as water stress, frost stress, sunburn, or mechanical damage (caused by non-living and living agents such as insects). Disease occurrence by different species of *Cytospora* spp. has been reported in a wide range of hosts, including species from the genera *Populus*, *Salix*, *Acer*, *Ulmus*, *Alnus*, *Fraxinus*, *Prunus*, *Sorbus*, *Cydonia*, *Amelanchier*, and many others.

**Methodology:** To identify the causes of Oriental hornbeam decline in Mazandaran province, samples from infected tissue were collected and transferred to the laboratory for fungal isolation. The most prominent symptoms of the disease were shoot dieback and dead or dying branches visible from a distance. In humid weather, cankers exuded clear amber resin, which eventually formed a clear white crust on the branches. In young seedlings, dried leaves remained on the branches, and the seedlings were completely desiccated, indicating the high severity of the disease. Fungal isolates were obtained by removing a mucoid spore mass from conidiomata (from the canker areas) and by disinfecting and culturing infected tissue on Potato-Dextrose-Agar (PDA) medium, incubated at 23±2°C in darkness. After purification of the fungal isolate by single spore, various morphological characteristics including spore shape and size, colony diameter, growth rate, and pigment production were evaluated on PDA medium.

**Results:** The fungus grew rapidly on PDA and produced cream-white to hyaline, moderate to profusely cottony aerial hyphae. Conidia were hyaline, unicellular, with thin walls and no septa. A transverse section of the infected tissues showed long conidiophores inside the fungal stromata. Based on morphological characteristics, the fungus was identified as *Cytospora* sp. The morphological results indicated a similarity between this isolate and *C. decipiens* species. This is the first report of '*Carpinus orientalis* decline' caused by *Cytospora* species in Iran.

**Conclusion:** Investigating the epidemiology and management of cytosporic canker disease is of particular importance because its development is expected to intensify under future drought and

climate stress conditions. Currently, due to increasing reports of decline caused by *Cytospora*, especially in Hornbeam species, the lack of information about the host range and epidemiology of the fungus, and the possible role of climate change in disease development, it is clear that this disease warrants further study.

Key words: *Carpinus orientalis*, *Cytospora*, Decline, Oriental hornbeam.

## مقاله کوتاه

اولین گزارش سرخشکیدگی سیتوسپورایی از درختان لور (*Carpinus orientalis* Mill.) در ایران

سیده معصومه زمانی<sup>۱\*</sup>، نرگس سپاسی<sup>۲</sup>، یزدانفر آهنگران<sup>۳</sup>، حسین لزرینی<sup>۴</sup> و ابراهیم زرقانی<sup>۵</sup>

\*- نویسنده مسئول، استادیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۲- پژوهشگر، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۳- کارشناس ارشد، دفتر حفاظت و حمایت سازمان منابع طبیعی و آبخیزداری کشور، تهران، ایران

۴- کارشناس ارشد، اداره کل منابع طبیعی و آبخیزداری استان مازندران- نوشهر، ایران

۵- استادیار پژوهش، ایستگاه تحقیقات منابع طبیعی نوشهر، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، نوشهر، مازندران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۲۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۲

## چکیده

مقدمه: جنس لور (*Carpinus orientalis* Mill.) یکی از درختان بومی ایران است که در جنگل‌های شمال کشور می‌روید. این گیاه درختی تا درختچه‌ای در مقایسه با دیگر گونه گیاهی هم جنس خود به نام مرز (*Carpinus betulus* L.) دارای تنه کوتاه‌تر و بسیار منشعب‌تر بوده و در مناطق رو به آفتاب و صخره‌ای رشد می‌کند. گونه‌های قارچی جنس سیتوسپورا (*Cytospora* spp.) به‌عنوان یکی از عوامل اصلی ایجادکننده شانکر شناخته می‌شوند و در درختان ضعیف، یا درختانی که تحت تأثیر عوامل تنش‌زا مانند تنش رطوبت، تنش یخبندان، آفتاب‌سوختگی، یا صدمات مکانیکی (ناشی از عوامل غیرزنده یا زنده مانند حشرات) قرار گرفته‌اند، خسارت ایجاد می‌کنند. وقوع بیماری توسط گونه‌های مختلف جنس سیتوسپورا در طیف وسیعی از میزبان‌ها، از جمله گونه‌های جنس صنوبر، بید، افرا، نارون، توسکا، زبان‌گنجشک، درختان میوه هسته‌دار، بارانک، درختان میوه دانه‌دار، زالزالک و بسیاری دیگر گزارش شده است.

مواد و روش‌ها: به‌منظور شناسایی علت سرخشکیدگی درختان لور در استان مازندران، طی نمونه‌برداری از مناطق مختلف، نمونه‌هایی از درختان دارای علائم سرخشکیدگی جمع‌آوری و ضمن ثبت مختصات جغرافیایی، به آزمایشگاه بیماری‌شناسی منتقل شد. شاخص‌ترین علامت بیماری از فواصل دورتر، شاخه‌های سرخشکیده، مرده یا در حال مرگ بود. شانکرها در هوای مرطوب صمغی بوده و در این شرایط رزین کهربایی شفاف از شانکر تراوش شده بود و در نهایت پوسته سفید آشکار روی شاخه‌ها قابل مشاهده بود. در نهال‌های جوان برگ‌های خشک‌شده روی شاخه‌ها باقی مانده و نهال‌ها به‌طور کامل خشک شده بود که نشانگر شدت بالای بیماری در این درختان بود. با استفاده از کشت مستقیم توده اسپوری کنیدیوماتا از محل تراوشات شانکر، ضدعفونی و کشت بافت‌های آلوده درخت روی محیط سیب‌زمینی دکستروز آگار، سه جدایه قارچی حاصل شد که پس از خالص‌سازی، در دمای  $23 \pm 2$  درجه سلسیوس و تاریکی نگهداری گردید. پس از خالص‌سازی جدایه‌ها به روش تک‌اسپور، بررسی برخی خصوصیات ریخت‌شناسی جدایه‌های قارچی شامل شکل و اندازه اسپور، قطر پرگنه، سرعت رشد و میزان حضور رنگدانه‌ها روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار انجام شد.

نتایج: نتایج بررسی‌ها نشان داد، رشد قارچ روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار سریع بوده و میسلیم‌های هوایی کرم مایل به سفید، شفاف، توده نسبتاً پنبه‌ای، کنیدی‌های شفاف، تک‌سلولی، با دیواره نازک و بدون سپتا تشکیل داد، همچنین برش عرضی بافت آلوده به علائم شانکر کنیدیوفورهای بلند را درون لوکول‌های استروماتای قارچی نشان داد. براساس خصوصیات مرفولوژیکی، قارچ تحت عنوان *Cytospora* sp. شناسایی و شباهت این گونه با گونه *C. decipiens* تأیید شد. این اولین گزارش از زوال درختان لور در اثر قارچ *Cytospora* از ایران است.

نتیجه‌گیری: بررسی اپیدمیولوژی و مدیریت بیماری شانکر سیتوسپورایی اهمیت ویژه‌ای دارد، زیرا در شرایط خشک‌سالی و تنش‌های پیش‌بینی‌شده پیشرو، توسعه آن بسیار شدید خواهد بود. در حال حاضر، با توجه به افزایش گزارش‌های ناشی از زوال درختان ناشی از قارچ *Cytospora sp.* به‌ویژه در گونه‌های جنس مرمر، اطلاعات کم در مورد دامنه میزبانی قارچ عامل بیماری و اپیدمیولوژی آن، همچنین نقش احتمالی تغییرات آب‌وهوایی در گسترش زوال این گونه‌های جنگلی، مدیریت این بیماری مستلزم مطالعات بیشتری است.

واژه‌های کلیدی: زوال، سیتوسپورا، لور، *Carpinus orientalis*.

زیراشکوب درختان روی خاک‌های مرطوب و حاصلخیز دره‌ها و دامنه‌های تخریب‌نشده و رو به آفتاب صخره‌ای رویش دارد.

بازدید از عرصه‌های خشکیده لور در تیرماه ۱۴۰۲ و در دو منطقه، ملاک- شهر پول گجور ( H: 1490m, UTM: ) و جیرنو- دوراهی کندلوس ( H: 5510474031060 ) و جیرنو- دوراهی کندلوس ( H: 5484944030150, UTM: 1200m ) انجام شد. بارزترین علامت بیماری از فاصله دورتر، شاخه‌های خشکیده و مرده یا در حال مرگ است (شکل ۱).

جنس مرمر (*Carpinus L.*) از خانواده غان (*Betulaceae*) و از جنس‌های مهم گیاهیست. این جنس دارای سی و پنج گونه درختی، خزان‌کننده و یک‌پایه است که مختص نیمکره شمالی هستند و از اروپای جنوبی تا جنگل‌های شمال ایران امتداد یافته‌اند ( *Suszka et al.*, 1998). این جنس در ایران در سرتاسر جنگل‌های خزری از گرگان تا ارسباران پراکنده است. گونه لور یا مرمر کوهی (*Carpinus orientalis Mill.*) گیاهی درختچه‌ای یا درختی کوچک با ارتفاع حدود پنج متر است که نسبت به مرمر در



شکل ۱- شاخه‌های خشکیده لور

Figure 1. Shoot dieback of Oriental hornbeam

(۲A) و درنهایت به پوسته سفید آشکار تبدیل می‌شود (شکل 2B-E).

شانکرها در هوای مرطوب صمغی هستند و در این شرایط رزین کهربایی شفاف از شانکر تراوش می‌کند (شکل



شکل ۲- A: شانکر و تراوشات بیماری روی تنه درخت لور. B-E: شانکر، تراوشات بیماری و پوسته سفید رنگ ناشی از آن روی تنه درختان لور

**Figure 2. A: Canker and disease symptoms on oriental hornbeam trunk. B-E: Canker, disease exudates and white crust on oriental hornbeam trunk**

می‌یابد، شاخ‌وبرگ تغییر رنگ می‌دهد، در بهار و تابستان هنگامی که شانکر به دور شاخه مانند کمربندی توسعه می‌میرد و برگ‌های خشکیده روی شاخه‌های مرده باقی می‌مانند (شکل ۳).



شکل ۳- گسترش آلودگی و خشک شدن قسمت فوقانی شاخه‌ها

**Figure 3. Diseases spread and dieback in upper parts of branches**

آب‌وهوایی مرطوب، پیچک‌های زرد- نارنجی حاوی اسپور از پیکنیدیا ترشح می‌شود (شکل ۴).

این عارضه روی تنه اصلی درختان جوان موجب خشک شدن کامل نهال می‌شود. آسکوکارپ‌های سیاه‌رنگ، گاهی در اطراف لبه‌های شانکر قابل مشاهده است. در شرایط



شکل ۴- استروماتای تیره رنگ عامل شانکر سیتوسپورایی روی پوست درخت لور

Figure 4. *Cytospora* dark Stromata on oriental hornbeam

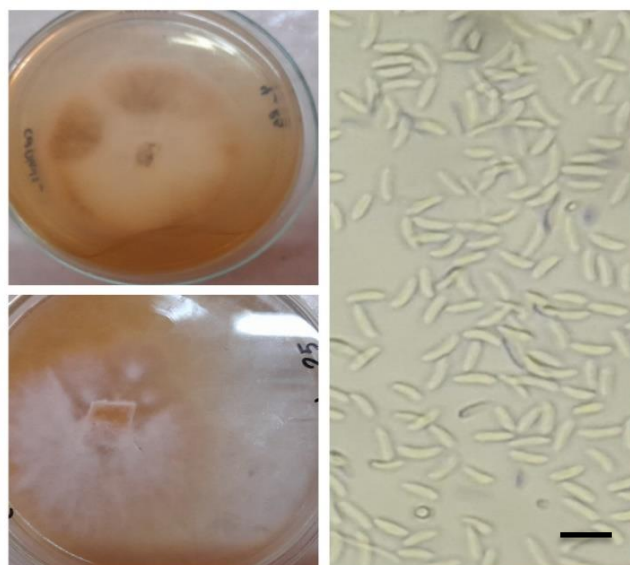
به تیره شدن می‌کند و رنگ‌دانه‌های خاکستری آن در محیط کشت دیده شد (شکل ۵).

شانکر سیتوسپورا یک بیماری ناشی از تنش است و در درختان ضعیف و یا درختانی که به‌نحوی تحت تأثیر تنش رطوبت، تنش یخبندان، آفتاب‌سوختگی، صدمات مکانیکی (ناشی از عوامل غیرزنده یا زنده مانند حشرات) یا سایر عوامل تنش‌زا قرار گرفته‌اند، ایجاد می‌شود. پاتوژن زمستان‌گذرانی را در شانکرهای تنه می‌گذرانند. آسکوسپورها و کنیدی‌ها در هوای مرطوب در بهار، تابستان و پاییز توسط باران، باد و حشرات پراکنده می‌شوند. آلودگی از طریق زخم رخ می‌دهد، منافذ ایجادشده در پوست، ناشی از تنش‌های محیطی به‌عنوان محل نفوذ آلودگی عمل می‌کنند. علائم مدت زمان کوتاهی پس از آلودگی ایجاد می‌شود، اما آلودگی‌های نهفته در گیاهان میزبان نیز ممکن است رخ دهد. به این معنا که قارچ می‌تواند تا زمانی که تنشی در گیاه بروز نماید، روی پوست بیرونی گیاه به حالت غیرفعال و بدون علامت باقی بماند. پیکنیدیاها و بعدتر پریتسیاها در حاشیه شانکرهای قدیمی تشکیل می‌شوند و قارچ بافت‌های سالم مجاور را کلونیزه می‌کند.

طی جنگل‌گردشی تصادفی در مناطق یادشده، از پایه‌هایی که علائم بیماری داشتند، نمونه‌برداری شد. در آزمایشگاه به‌منظور جداسازی قارچ از بافت‌های آلوده، بعد از ضدعفونی سطحی، بافت‌های شاخه و ساقه آلوده به قسمت‌های کوچک‌تر تقسیم شده و به محیط کشت PDA منتقل و در دمای  $23 \pm 2$  درجه سلسیوس تا ایجاد کلنی قارچی نگهداری شدند. همچنین از کشت مستقیم توده کنیدیوماتا روی محیط کشت نیز به‌منظور جداسازی قارچ عامل بیماری استفاده شد (Pan *et al.*, 2020).

عامل بیماری‌زا براساس شکل و اندازه کنیدی، رنگ کلنی، شکل اندام باردهی غیرجنسی روی پوست درخت، نوع علائم ایجادشده روی گیاه قارچ *Cytospora* sp. شناسایی شد. رشد کلنی سریع بوده و در محیط کشت PDA به قطر  $6/5$  تا  $7/5$  در عرض ۷ روز و دمای  $23 \pm 2$  درجه سلسیوس رسید. بیمارگر کلنی‌هایی با سطح پنبه‌ای و هیف‌های هوایی در سطح محیط کشت تشکیل داد. کنیدیوم‌های بیمارگر بی‌رنگ، تک‌سلولی و آلانتوئید، با دیواره نازک و فاقد سپتا، با اندازه  $1/3 \mu - 1/4 \mu \times 7/8 \mu - 11$ ، در کشت‌های قدیمی (حدود ۳-۴ هفته) میسلیوم شروع





شکل ۵- مشخصات قارچ روی محیط PDA ۱۰ روز پس از کشت (کنیدی‌های قارچ با بزرگنمایی 40X)

Figure 5. Culture characteristics on PDA after 10 days. Conidia in 40x. scale 5 um.

در نهالستان‌ها و فضاهای سبز شهری که دسترسی‌های بیشتری برای کنترل بیماری وجود دارد، شیوع و شدت بیماری شانکر سیتوسپورا می‌تواند با حفظ و افزایش بنیه و توان گیاه (مانند مدیریت تغذیه‌ای گیاه، مدیریت آب برای جلوگیری از تنش‌های ناشی از خشکی، کنترل حشرات)، کاهش صدمات به ساقه و پوست درخت، هرس و از بین بردن شاخه‌های آلوده کاهش می‌یابد. اما در اکوسیستم‌های طبیعی اپیدمی بیماری و مدیریت آن پیچیدگی‌های بیشتری دارد. در اکوسیستم‌های جنگلی، اهمیت بیماری‌زایی *Cytospora decipiens* در سال‌های اخیر به دلیل افزایش تعداد گزارش‌ها از ابتلای درختان ارزشمند *Carpinus* sp. به این قارچ، افزایش سطح گسترش و تعداد درختان درگیر و نیز گزارش قارچ از مناطق مختلف دنیا از جمله کشور ما ایران، افزایش یافته است. دلایل این افزایش هنوز ناشناخته است، اما گفته می‌شود بخشی از آن به تنش‌های محیطی مکرر اخیر روی گیاهان مربوط است که آنها را به شدت در برابر عوامل بیماری‌زا مستعد می‌کند. بی‌شک اپیدمی بیماری، تحت تأثیر مستقیم تغییرات اقلیمی از جمله تغییر الگوی بارش، افزایش درجه حرارت (به‌ویژه گرمای شدید

تاکنون ۱۱۰ گونه سیتوسپورا توصیف شده است که با شانکر، سرخشکیدگی، زوال و مرگ‌ومیر بسیاری از محصولات باغی، جنگل‌ها و درختان شهری مرتبط هستند و تفکیک آنها از یکدیگر عمدتاً براساس دامنه میزبانی بوده است (Lawrence et al., 2018؛ Pan et al., 2020). گونه *C. decipiens* توسط Mirabolfathi و همکاران (۲۰۱۸) از منطقه ناهارخوران واقع در غرب گلستان و شهر دلد در طول تابستان و پاییز، روی میزبان ممرز (*C. betulus*) شناسایی و جداسازی شد. نتایج تحقیقات آنان نشان داد، در تابستان‌هایی که درختان به مدت طولانی (به مدت ۵۰-۶۰ روز) در دماهای بالا مانند ۳۸-۴۰ درجه قرار بگیرند و شرایط خشکی را سپری کنند، شدت بیماری افزایش پیدا می‌کند و حدود ۱۰ درصد درختان در پاییز بر اثر زوال از بین می‌روند (Mirabolfathi et al., 2018). تاکنون گزارشی از *Cytospora* روی گونه لور (*Carpinus orientalis*) در ایران نشده است و این اولین گزارش از بیماری شانکر سیتوسپورایی از گیاه لور می‌باشد. در بررسی‌های مرفولوژیکی تأیید اولیه گونه *Cytospora decipiens* انجام شد و برای تأیید شناسایی مرفولوژیکی، نیاز به بررسی‌های مولکولی است.

اپیدمیولوژیکی بیماری دارد.

#### منابع مورد استفاده

- Lawrence, D.P., Holland, L.A., Nouri, M.T., Travadon, R., Abramians, A., Michailides, T.J. and Trouillas, F.P., 2018. Molecular phylogeny of *Cytospora* species associated with canker diseases of fruit and nut crops in California, with the descriptions of ten new species and one new combination. *IMA Fungus*, 9: 333–370.
- Mirabolfathi, M., Javadi, A. and Peigham Ashenaee, S., 2018. The occurrence of *Anthostoma decipiens*, the causal agent of 'Carpinus betulus decline', in northern Iran. *New Disease Reports*, 37: 1.
- Pan, M., Zhu, H., Bonthond, G., Tian, C. and Fan, X., 2020. High diversity of *Cytospora* associated with canker and dieback of *Rosaceae* in China, with 10 new species described. *Frontiers in Plant Science*, 11: 690.
- Suszka, B., Muller, C. and Bonnet-Masimbert., M., 1998. Seeds of forest broad-leaves: from harvest to sowing. *Institut National de la Recherche Agronomique, Paris*, 294p.

تابستانه) و دی‌اکسیدکربن قرار می‌گیرد و به‌طور غیرمستقیم به‌وسیله فاکتورهایی مانند وقوع فزاینده سایر آفات و عوامل بیماری‌زا در جنگل‌ها و تخریب‌های انسانی (به‌ویژه دی‌پوی زباله که در همین منطقه وجود داشت) افزایش می‌یابد. در نتیجه این تغییرات، گسترش جغرافیایی، فراوانی نسبی و شیوع عامل بیماری‌زا، مقاومت میزبان در برابر بیماری، فیزیولوژی، نحوه تعاملات میزبان و عامل بیماری‌زا، میزان گسترش و شدت بیماری و اثربخشی اقدامات مدیریتی تغییر می‌یابد. به‌دلیل همین ابهامات و پرسش‌های پاسخ داده نشده، در حال حاضر اطلاعات قطعی در مورد اپیدمیولوژی و کنترل بیماری وجود ندارد. به عقیده پژوهشگران، اگر *Cytospora decipiens* در سطح جنگل‌ها به گونه‌ای غیر از ممرز که قبلاً از آن گزارش شده حمله کند، وضعیت مدیریت آن دشوارتر می‌شود. بدیهی است که حل این مشکل نیازمند مطالعات بیشتر، به‌ویژه روی جنبه‌های