

عوامل قارچی همراه ریشه و طوقه درختان بادام رو به زوال در استان‌های آذربایجان شرقی، سمنان، یزد و چهارمحال و بختیاری

اکبر دیزجی^۱، مسعود ذاکر^۲، سید علیرضا اسمعیل‌زاده حسینی^۳، احمد حیدریان^۴ و جعفر ارشاد^۵

چکیده

بادام پس از پسته دومین محصول عمده میوه‌های خشک ایران می‌باشد. به منظور تعیین قارچ‌های خاک‌زاد عامل زوال و خشکیدگی درختان بادام، باغات متعدد واقع در مناطق مختلف استان‌های آذربایجان شرقی، سمنان، یزد و چهارمحال و بختیاری در طی سال‌های ۱۳۸۲-۱۳۷۹ مورد بازدید قرار گرفته و درختان دارای علائم ضعف، زوال، زردی و پژمردگی و خشکیدگی تاج درخت انتخاب و از ناحیه ریشه و طوقه آنهایی که علائم پوسیدگی، نکروز بافتی و شانکر در این قسمت‌ها داشتند، نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها پس از شستشو و ضدعفونی سطحی با محلول ۰/۵ درصد هیپوکلریت سدیم، درشتک‌های پتری حاوی محیط کشت PDA، PDA اسیدی، CMA-PARP کشت داده شدند. از قطعات مورد کشت، جدایه‌هایی از *Fusarium*، *Phytophthora cactorum*، *Verticillium dahliae*، *oxysporum*

Alternaria sp.، *Armillaria mellea*، *Rosellinia necatrix*، *F. solani*، *F. compactum*، *Penicillium* sp.، *Rhizoctonia solani*، *Macrophomina phaseolina*، *Cylindrocarpon* sp.، *Trichoderma* sp. جداسازی شدند. آزمون‌های بیماری‌زایی روی نهال‌های بادام ۲-۳ ساله نشان داد که قارچ‌های *A. mellea* و *R. necatrix*، *P. cactorum*، *V. dahliae* عوامل مهم بیماری‌زای قارچی خاکزاد هستند که باعث پوسیدگی ریشه و طوقه می‌شوند، در حالیکه قارچ‌های *R. solani*، *M. phaseolina* و *Fusarium* spp. و *Cylindrocarpon* sp. با ایجاد نکروز در طوقه یا ریشه فقط علائم ضعف خفیف را در نهال‌ها ایجاد می‌کنند. طی این تحقیق مشخص شد که اولاً برخی از درختان مبتلا به زوال و خشکیدگی فاقد هر گونه پوسیدگی در ناحیه طوقه و ریشه بودند، ثانیاً از تعدادی از درختان دارای علائم پوسیدگی یا عارضه جدا شدگی پوست در طوقه و یا ریشه و زوال هیچ عامل قارچی جدا سازی نگردید. نتایج حاکی از آن است که ترکیبی از عوامل بیماری‌زای قارچی خاکزاد و عوامل غیرعفونی مانند کاشت عمیق نهال، روش نادرست آبیاری و عملیات نادرست نگهداری باغ باعث بروز پدیده زوال و خشکیدگی درختان بادام می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: زوال بادام، آرمیلاریا، ورتیسیلیوم، فیتوفترا، روزلینیا

۱، ۲، ۳ و ۴. به ترتیب مربیان پژوهشی بخش تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی مراکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی، سمنان، یزد و چهارمحال و بختیاری

۵. استاد پژوهش بخش تحقیقات رستنی‌ها، بخش تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی تهران

مقدمه

بادام سالیان متمادی محصول سنتی در حوزه مدیترانه بوده و خاستگاه آن منطقه وسیعی از آسیاست که شامل ایران، تاجیکستان، افغانستان و پاکستان می باشد (گراسلی و دووال، ۱۹۹۷). بادام در سال زراعی ۸۱ - ۱۳۸۰ با سطح زیر کشت ۱۵۲۸۴۶ هکتار در میان محصولات باغی جایگاه پنجم (پس از پسته، انگور، خرما و سیب) و در میان محصولات خشک جایگاه دوم (پس از پسته) را به خود اختصاص داده بود. استانهای خراسان، فارس، چهارمحال و بختیاری، آذربایجان شرقی، کرمان و یزد از مناطق عمده احداث باغات بادام در ایران به شمار می روند (آمار نامه کشاورزی ۱۳۸۲). از مشکلات مهم بادام بیماری‌هایی است که منجر به بروز علائمی چون ضعف، زوال و در نهایت خشکیدگی درخت می‌شود. قسمتی از این علائم به بیماری‌های قارچی خاکزاد سیستم ریشه میزبان بر می‌گردد. تحقیقات انجام شده در کالیفرنیا نشان می‌دهد که دو گونه *P. cactorum* و *Phytophthora citricola* عامل بیماری شانکر و پوسیدگی طوقه درختان بادام می‌باشد که گونه *P. cactorum* غالباً به ناحیه طوقه و ریشه حمله می‌کند در حالی که *P. citricola* علاوه بر ایجاد شانکر در قسمت‌های هوایی درخت، قدرت حمله به قسمت‌های زیرزمینی را نیز داراست (براون و ویورس، ۱۹۹۸). بطوریکه گونه *P. citricola* اکثراً از شانکرهای بالای سطح خاک و گونه *P. cactorum* اکثراً از شانکرهای محدود به زیر سطح خاک جداسازی می‌شوند (براون و ویورس، ۱۹۹۹). همچنین مشخص شده که گونه *Phytophthora megasperma* معمولاً از درختان مبتلا به خشکیدگی که هنوز به مرحله باردهی نرسیده‌اند، جداسازی می‌شود (براون و ویورس، ۱۹۹۸). از دیگر عوامل بیماریزای قارچی خاکزاد بادام می‌توان به *Armillaria mellea* (گیلومین و همکاران، ۱۹۹۱) و *Verticillium dahliae* (لویسی و همکاران، ۱۹۹۴) اشاره کرد. طی تحقیقات انجام

شده روی باغات زیر کشت گونه‌های جنس *Prunus* و از جمله بادام در امریکا، نماتدهای بیماریزا، گونه‌های بیماریزای فیتوفترا و آرمیلاریا از عوامل اختلال بازکاری (Replant disorder, RD) شناخته شده‌اند. البته از ریشه درختان مبتلا قارچ‌های دیگری از جنس‌های *Fusarium*، *Cylindrocarpon* و *Aspergillus* نیز جداسازی شده‌اند (براون و همکاران، ۲۰۰۱). عارضه مرگ و میر درختان بادام از پاره‌ای از مناطق ایران نیز گزارش شده است. بهداد (۱۳۵۴) *Rosellinia necatrix* را از باغات ارومیه، تبریز و اصفهان و فاطمی (۱۳۵۶) گونه‌هایی از فیتوفترا را از درختان بادام استان فارس گزارش کرده‌اند. محمدی‌پور و همکاران (۱۳۸۱) و زکیی و پورمنصوری (۱۳۷۴) از درختان بادام درحال زوال استانهای آذربایجان شرقی و چهارمحال و بختیاری قارچ *Verticillium dahliae* را جدا و گزارش نموده‌اند. بررسی‌های خباز و اسدی (۱۳۷۴) حاکی از تاثیر آنتاگونیستی خوب بعضی از جدایه‌های تریکودرما علیه جدایه‌های آذربایجان شرقی از قارچ *A. mellea* دارد. بر اساس مطالعات سرتیپی و بنی هاشمی (۱۳۷۷) گونه‌های فیتوفترا و بویژه *P. cactorum* بعنوان عامل اصلی بیماری زوال هسته‌داران و از جمله بادام، در استان فارس تعیین شده است.

مواد و روش‌ها

۱. نمونه‌برداری

طی فصول بهار و تابستان سال‌های ۸۲-۱۳۷۹ باغات عمده بادام در استان‌های آذربایجان شرقی، چهارمحال و بختیاری، یزد و سمنان (جدول ۱) مورد بازدید قرار گرفته و درختان بادام با علائم خشکیدگی، زوال، کم‌رشدی، سبز خشکی تاج درخت، ریزبرگی و ریزش میوه به همراه پوسیدگی، نکروز و شانکر ریشه یا طوقه شناسایی شده و از ناحیه ریشه و طوقه‌شان

جدول ۱: استان‌ها و مناطق نمونه‌برداری

| استان | مناطق نمونه برداری |
|--------------------|--|
| آذربایجان شرقی | مراغه، بناب، عجب شیر، آذرشهر، اسکو، ایلخچی، حومه تبریز، صوفیان، مرند، شبستر، شندآباد و بستان آباد |
| چهارمحال و بختیاری | کاما برون، همت‌آباد، لره، خلیل‌آباد، اسلام‌آباد، کلوچای، دره‌دراز، جعفرآباد، مارکده، گرمدره، چلوان و کاهکش |
| سمنان | شهمیرزاد، بیارجمند، شاهرود، ابرسج و بسطام |
| یزد | بنادکوک، نیر، تفت، منشاد، بنادک سادات، ده‌بالا، طزرجان و مهریز |

نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها درون یخدان به آزمایشگاه انتقال داده شدند.

۲. جداسازی

نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه و شستشو با آب به قطعات کوچک 0.5×0.5 سانتی متر ریز شده و پس از ضدعفونی سطحی در محلول هیپوکلریت سدیم (NaClO) ۰/۵ درصد به مدت ۲-۱ دقیقه، شستشو با آب مقطر استریل و خشک کردن در بین قطعات کاغذ صافی، درون تشتکهای پتری حاوی مواد غذایی کشت شدند. در این خصوص از محیط‌های غذایی عمومی PDA، PDA اسیدی و در برخی موارد از محیط کشت اختصاصی فیتوفترا CMA-PARP (شامل محیط کشت پایه CMA، پیمارسین ۱۰ ppm، آمپی سیلین ۲۵۰ ppm، ریغامپسین ۱۰ ppm و PCNB ۱۰۰ ppm) استفاده شد. تشتکهای پتری به مدت ۵-۳ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط تاریکی یا نور- تاریکی قرار داده شده و قارچهای رشد کرده درون تشتکهای مجزایی کشت شده و سپس نسبت به خالص‌سازی جدایه‌ها اقدام گردید.

۳. خالص‌سازی جدایه‌ها

خالص‌سازی جدایه‌های مربوط به جنس‌های *Macrophomina*، *Armillaria*، *Rosellinia* و *Phytophthora* با روش نوک ریشه و جدایه‌های مربوط به جنس‌های *Verticillium*، *Cylindrocarpon* و *Fusarium* با روش تک اسپور روی محیط کشت آب- آگار ۲ درصد انجام گرفت. نوک ریشه‌ها و تک اسپورها روی محیط کشت PDA انتقال یافتند.

۴. آزمون بیماریزایی

تهیه نهال‌های بادام

آزمون بیماریزایی جدایه‌های قارچی انتخاب شده، روی نهال‌های بادام ۳-۲ ساله انجام شد. برای تهیه نهال‌های مورد نیاز، بذور بادام تلخ پس از طی دوره استراتیفیکاسیون در دمای ۶-۳ درجه سانتی-گراد به مدت ۴۵ روز درون ماسه مرطوب و محیط کاملاً تاریک، در گلدان‌های حاوی خاک پاستوریزه شده به مدت ۹۰ دقیقه و دمای ۸۰-۷۵ درجه سانتی‌گراد، کاشته شدند. گیاهچه‌های جوان بطور

برداشته شده و با نسبت ۱:۲ (خاک:مایه) با مایه آماده مخلوط شده و به اطراف نهال ها ریخته شد. خاک گلدان نهال های شاهد با بذور گندم استریل و با همان نسبت مخلوط شدند (سینگلتون و همکاران، ۱۹۹۲).

مایه زنی ریشه با استفاده از سوسپانسیون اسپور قارچی سوسپانسیون اسپوری با غلظت تقریبی 5×10^6 اسپور در هر میلی لیتر از جدایه های *Fusarium* و *Verticillium*، *Cylindrocarpon* تهیه شد. نهال ها به آرامی از خاک بیرون کشیده شده و ریشه ها درون سوسپانسیون اسپور بمدت ۲-۴ دقیقه قرار داده شد. سپس نهال ها درون گلدان ها کاشته شده و مقدار ۴۰ میلی لیتر از سوسپانسیون اسپور به خاک گلدان ریخته شد. در گلدان های شاهد از آب مقطر بجای سوسپانسیون اسپور استفاده شد (سینگلتون و همکاران، ۱۹۹۲).

مایه زنی ساقه اصلی نهال با سوسپانسیون اسپور این روش در مورد جدایه های *Verticillium* علاوه بر روش فوق به کار گرفته شد. بدین ترتیب که سوسپانسیون اسپوری با غلظت 3×10^7 اسپور در هر میلی لیتر تهیه شده، در ناحیه چند سانتی متر بالاتر از سطح خاک در ساقه نهال ها برش عرض در پوست ایجاد شده و چند قطره از سوسپانسیون به محل زخم افزوده شد. منطقه زخم شده توسط پارافیلیم پوشانیده شد (لوئیس و همکاران، ۱۹۹۴).

نتایج

۱. علائم بیماری

نشانه های مشهود بیماری در تاج درختان مبتلا به زوال بصورت تأخیر در شروع رشد بهاره درختان و یا زردی و پژمردگی برگها در فصول بهار و تابستان و بالاخره خشکیدگی شاخه ها مشاهده شد. در بیماری پوسیدگی فیتوفتورایی، علائم پوسیدگی در قسمتهای طوقه و ریشه به صورت شانکر دیده شده و اکثراً از بافتهای پوسیده صمغ تراوش می کرد. در بیماری

مرتب هر چند روز یکبار آبیاری شده و نهالهای حاصله در سن ۲-۳ سالگی مورد استفاده قرار گرفتند.

اثبات بیماریزایی جدایه های قارچی انتخاب شده

بیماریزایی دوجدایه از قارچهای *Fusarium*، *Verticillium*، *Armillaria*، *Rosellinia*، *Phytophthora*، *Cylindrocarpon* و *Macrophomina* روی نهال های ۲-۳ ساله تحت شرایط گلخانه مورد آزمایش قرار گرفت.

مایه زنی طوقه با استفاده از بلوک قارچی در ناحیه زیر پوست این روش برای جدایه های از جنس های قارچهای *Fusarium*، *Armillaria*، *Phytophthora* و *Macrophomina* و استفاده شد. بدین منظور، در پوست طوقه نهال ها توسط اسکالپل سترون شکافی به عمق تقریبی یک میلی متر و به طول یک سانتی متر ایجاد و پوست آن کنارزده شده و بلوکهای ۵ میلی متری از حاشیه پرگنه در حال رشد قارچ برداشته شده و در شکاف ایجاد شده (زیر ناحیه پوست) قرار داده شدند. محل مایه زنی با پارافیلیم پوشانده و خاکهای کنار زده شده از ناحیه طوقه به اطراف طوقه برگردانده شد. در تکرارهای شاهد از بلوک های محیط غذایی استریل استفاده شد (سینگلتون و همکاران، ۱۹۹۲).

مایه زنی ریشه بوسیله اینوکولوم تهیه شده روی دانه گندم این روش در مورد جدایه های *Rhizoctonia* مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا ۵۰ گرم بذر گندم درون فلاسکهای شیشه ای بمدت ۲۴ ساعت خیسانده شده و پس از حذف آب اضافی، محتویات فلاسکها سه مرتبه بصورت یک روز در میان در دمای ۱۲۱ و بمدت ۳۰ دقیقه سترون شدند. سپس از حاشیه پرگنه های درحال رشد ۳-۵ روزه، بلوکهای ۵ میلی متری به درون فلاسکها منتقل شد. پس از ۳ هفته رشد در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در تاریکی، مایه تلقیح مورد استفاده قرار گرفت. بدین ترتیب که خاک اطراف نهال های درون گلدان تا عمق ۸ سانتی متری

این تحقیق اندام‌هائی از نهال‌های بادام با علائم نکروز بافتی در ناحیه پوست و چوب مورد کشت قرار گرفتند که هیچ میکرواورگانیزی از قطعات کشت شده جدا سازی نشد.

۳. اثبات بیماریزایی

قارچهای *A. mellea*, *P. cactorum* و *R. necatrix* که روی نهال‌های ۲-۳ ساله مایه‌زنی شده بودند بیماریزا بوده و درجاتی از علائم پوسیدگی طوقه و/یا ریشه ایجاد و در نهایت مرگ را موجب شدند. در نهال‌های شاهد علائم فوق‌الذکر دیده نشد. همچنین مشخص شد که مایه زنی ساقه نهال با سوسپانسیون اسپور ورتیسیلیوم نسبت به مایه زنی ریشه روش بهتری می‌باشد. مایه-زنی گونه‌های *Fusarium oxysporum* و *F. solani* روی نهالها باعث پوسیدگی ریشه‌ها گردید، در حالی که در نهال‌های مایه زنی شده با *M. phaseolina* و *R. solani* علائم پوسیدگی در ناحیه طوقه ایجاد شد. ولی به طور کلی در نهالهای مایه‌زنی شده با این قارچها علائم خاصی در اندامهای هوایی حاصل نشد. فقط یک جدایه از *Cylindrocarpon* جداسازی شده از درختان بادام استان سمنان روی نهال‌های بادام شش ماهه از خود خاصیت بیماریزائی نشان داد، ولی همین جدایه روی نهال‌های بادام دو ساله غیربیماریزا بود.

ورتیسیلیومی علائم زردی، پژمردگی و خشکیدگی برگها و شاخه‌ها در یک طرف تاج درختان بادام به چشم می‌خورد که با تهیه برش عرضی از شاخه‌های خشکیده، نکروز آوندی (شکل ۱) مشهود بود. در بیماری پوسیدگی آرمیلاریایی، ریشه و طوقه دچار پوسیدگی شده و میسیلیوم سفید رنگ عامل بیماری حد واسط پوست مرده و چوب نمایان بود. در بیماری پوسیدگی سفید ریشه نیز درختان خشک شده، میسیلیوم‌های خاکستری رنگ قارچ در سطح و بین پوست و چوب ریشه‌های پوسیده مشاهده شد.

۲. قارچ‌های جداسازی شده

تعداد نمونه‌های مورد کشت، قارچ‌های جداسازی شده و نیز فراوانی هر یک از آنها در جدول ۲ آمده است. از ۱۵ نمونه جمع آوری شده از استان آذربایجان شرقی با علائم پوسیدگی ناحیه طوقه و پیشروی آن به طرف پایین و بالا هیچ میکرواورگانیزی جدا سازی نشد. پوست در این نمونه‌ها، نکروز شده و اندکی حالت فرو رفتگی داشت. علاوه بر این چند میلی متر از بافت چوب این ناحیه به طرف عمق نکروز شده و رنگ قهوه‌ای به خود گرفته بود، ولی نواحی عمیق تر چوب رنگ طبیعی داشتند. در برخی نمونه‌ها این تغییر رنگ و نکروز بافتی تا عمق چوب نیز پیشروی کرده بود. معمولاً در زیر پوست این نمونه‌ها، شیره پرورده کاملاً پخش شده و حالت چسبناکی را ایجاد کرده بود. در برخی از این نمونه‌ها نیز شیره پرورده بصورت قطراتی از صمغ به بیرون ناحیه طوقه یا تنه تراوش می‌کند. در طی

۴. مشخصات قارچ‌های بیماریزای جدا شده

Phytophthora cactorum

اسپورانژیوم‌ها پاییل دار و ریزان و به شکل تخم مرغی تا بیضوی شکل با پدیسل کوتاه بودند (شکل ۲). ابعاد اسپورانژیوم‌ها (۳۳/۹×۲۴/۶) (۳۵/۷-۲۴/۵-۴۲×۱۷/۵) میکرومتر تعیین شد. اگونیوم و اووسپوره‌های کروی و آنتریدیوم‌های پارژن (شکل ۳) روی محیط کشت PDA تشکیل شد که ابعاد آنها بترتیب (۲۹/۲) (۲۴/۲-۳۳/۷)، (۲۷/۱) (۲۴/۹-۳۲/۱) و (۱۳/۴) (۱۰/۳-۱۵) میکرومتر تعیین گردید. دمای بهینه رشد ۲۶ سانتی‌گراد بود.

Verticillium dahliae

این قارچ روی محیط کشت کند رشد بوده، پرگنه قارچ با میسلیوم‌های روشن بوده که به مرور از مرکز محیط کشت با تشکیل میکرواسکلروت، رنگ پرگنه به تیرگی می‌گراید. میکرواسکلروتها اکثراً به صورت زنجیری (شکل ۴) و به وفور در محیط کشت تشکیل شد. کنیدیها بیضی شکل، شفاف و یک سلولی به ابعاد (۶×۴/۴۵) (۴/۹-۷×۲/۸-۴/۲) میکرومتر بوده و بصورت دستجات کوچکی در انتهای کنیدی بر تولید می‌شوند. کنیدی برها منشعب (۳-۴) فیالید در محل انشعاب) و حالت فراهم دارند (شکل ۵).

Armillaria mellea

میسلیوم سفید رنگ پاتوزن به صورت بادبزی شکل در حد واسط پوست مرده و چوب ریشه و طوقه نمایان می‌باشد. این قارچ در محیط کشت به کندی رشد می‌کند. غالباً در محیط کشت MA تولید ریزومورف دیکوتومیک می‌نماید، در بهار و بخصوص

پائیز به دنبال بارندگی‌ها، کلاهک‌های عسلی رنگ بصورت مجتمع در اطراف طوقه درخت آلوده ظاهر می‌شوند این کلاهک‌ها در قسمت وسطی برجسته بوده و دارای تیغه‌های شعاعی می‌باشند.

Rosellinia necatrix

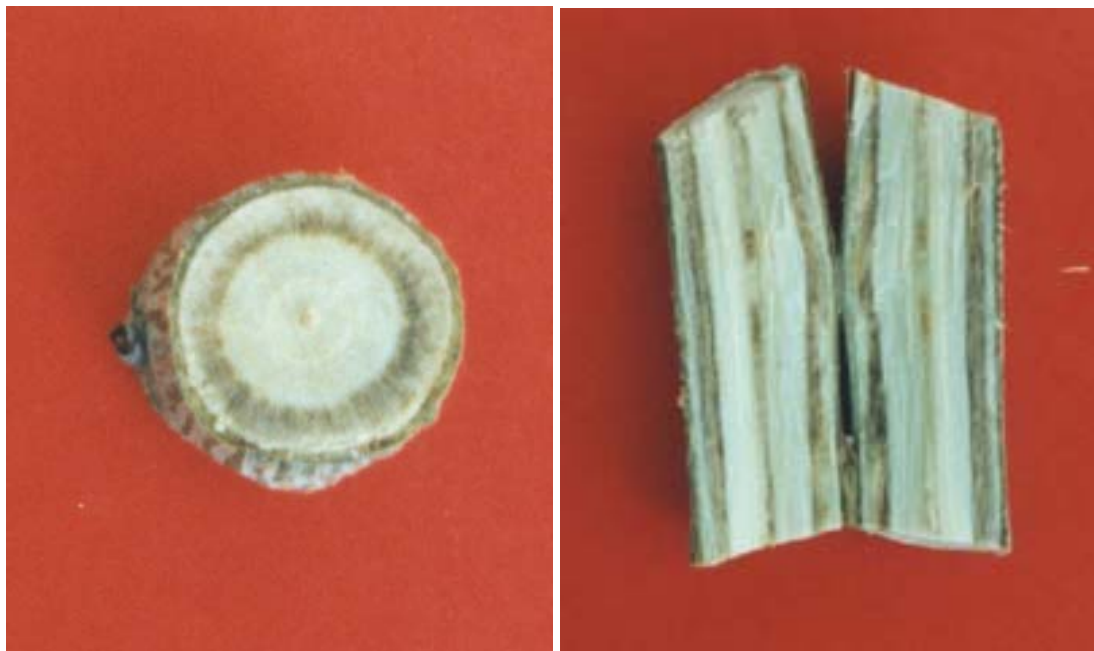
میسلیوم های سفید متمایل به خاکستری رنگ قارچ در سطح پوست ریشه درختان آلوده و نیز حد فاصل پوست و چوب ریشه تشکیل می‌شوند. وجود تورم‌های گلابی شکل در محل دیواره عرضی ریشه‌ها از خصوصیات اصلی این قارچ می‌باشد.

Cylindrocarpon sp.

رشد پرگنه در محیط کشت کند بوده و پس از ۵ روز به ۲۰ میلیمتر می‌رسد. رنگ میسلیوم نخست سفید رنگ ولی بمرور زمان برنگ قهوه ای شکلاتی کمرنگ تغییر می‌نماید. کنیدیوفورها ساده و کشیده، با اندازه ۴×۴۵-۳۰ میکرومتر در دستجات نامرتب شبیه به فیالید بوجود می‌آیند. کنیدیها به دو صورت میکروکنیدی بیرنگ، بدون دیواره عرضی، بیضوی تا تخم مرغی شکل و با اندازه ۵-۴×۸-۶ میکرومتر و ماکروکنیدی بیرنگ، استوانه‌ای و خمیده (شبیه به ماکروکنیدی در فوزاریوم) با ۳-۱ دیواره عرضی و اندازه ۶-۵×۴۷-۲۵ میکرومتر ظاهر می‌گردند.

Fusarium spp.

تعدادی از جدایه‌های جنس فوزاریوم گونه‌های *F. compactum* و *F. solani*، *F. oxysporum* شناسایی شدند.



شکل ۱: نکروز آوندی در مقاطع عرضی شاخه درخت بادام آلوده به ورتیسیلیوم



شکل ۲: اسپورانژیوفر منشعب با اسپورانژیوم تخم مرغی شکل پاییل دار و ریزان
Phytophthora cactorum با پدیسل کوتاه



شکل ۳: اگونیوم و اووسپورهای کروی و آنترییدیوم پارازن *Phytophthora cactorum*



شکل ۵: کنیدی‌برهای فراهم قارچ *Verticillium dahliae*



شکل ۴: میکرواسکروتوهای قارچ *Verticillium dahliae* تولید شده روی PDA

و *P. cactorum*، *V. dahliae*، *A. mellea* و *R. necatrix* می باشد ولی اهمیت هر کدام از این عوامل در مناطق مختلف متفاوت است. از جدول ۲ بر می آید که *A. mellea* در آذربایجان شرقی، *V. dahliae* و *R. necatrix* در چهار محال و بختیاری، *V. dahliae* در سمنان و *R. necatrix* در

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که عوامل اصلی قارچی بیماری زوال و مرگ درختان بادام در استانهای آذربایجان شرقی، چهار محال و بختیاری، سمنان و یزد قارچهای

در بقایای گیاهی درختان آلوده یا گیاهان آلوده (محصولات توأم کشت شده در باغات بادام همچون صیفی جات، جالیز و علوفه) بقاء خود را در خاک حفظ می کند (مول و همکاران، ۱۹۹۶؛ لویسی و سیکولی ۱۹۹۳). بیماری پوسیدگی سفید ریشه درختان بادام در دو استان یزد و چهارمحال و بختیاری بعنوان یکی از مهمترین عوامل بیماریزایی قارچی خاکزاد بادام محسوب می گردد، بطوریکه ۷۲ و ۲۰ درصد جدایه های قارچی به دست آمده از نمونه های استانهای یزد و چهارمحال و بختیاری (به ترتیب) به قارچ *R. necatrix* اختصاص داشته است. این بیماری در آذربایجان شرقی و سمنان مشاهده نشد.

نتایج حاصل از آزمون بیماریزایی جدایه های قارچی حاکی از آن است که شدت علائم نهال های تیمار شده با چهار گونه *A. mellea*، *P. cactorum*، *V. dahliae* و *R. necatrix* نسبت به شاهد قابل توجه بوده و باعث بروز علائم نکروز و پوسیدگی در بافتهای ریشه و طوقه، ضعف، کاهش رشد و بالاخره مرگ نهال ها شدند. مایه زنی قارچهای *R. solani* و *M. phaseolina* به نهال ها باعث بروز نکروز طوقه و قارچهای *Fusarium spp.* منجر به نکروز ریشه های فرعی گردید. با این حال به نظر می رسد شدت بیماریزایی *R. solani* و *F. oxysporum* بیشتر از بقیه گونه های فوزاریوم و *M. phaseolina* باشد، زیرا در اندامهای هوایی نهالهای مایه زنی شده نیز علائم نسبی مشاهده گردید، در حالیکه علائم *F. solani*، *F. compactum* و *M. phaseolina* محدود به ریشه های فرعی و طوقه بود. نتایج بررسی های انجام شده قبلی در نواحی مرکزی ایران نیز حاکی از این است که علاوه بر خسارات ناشی از مشکلات آگرونومیکی، زوال و مرگ درختان بادام غالباً در ارتباط با پژمردگی ورتیسلیومی و قارچهای عامل پوسیدگی طوقه و ریشه (*A. mellea*، *P. cactorum*، *V. dahliae* و *R. necatrix*) بوده است. همچنین جدایه های *Rhizoctonia*، *Fusarium spp.* و

استان یزد مهمترین عوامل بیماریزای قارچی خاکزاد بادام هستند.

بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه بادام با عامل *A. mellea* یکی از بیماریهای مهم در استانهای آذربایجان شرقی و چهارمحال و بختیاری بوده، لیکن در سمنان و یزد مشاهده نشد. این بیماری بیشتر در باغات رها شده و باغاتی که آبیاری نشده یا گهگاهی آبیاری می شوند به چشم می خورد. شدت این بیماری در تابستانهای گرم و شرایط کمبود آب بیشتر است. در استان چهار محال و بختیاری ۲۱ درصد از باغات منطقه جعفرآباد آلوده به این قارچ می باشند. بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه بادام با عامل *P. cactorum* بیشتر در باغاتی با بافت سنگین خاک به چشم می خورد. آبیاری های غرقابی سنگین و با فواصل زمانی کم، شرایط مناسبی را برای ایجاد و توسعه این بیماری مهیا می کند. بطوریکه اکثر درختان آلوده به این قارچ در چنین شرایطی واقع بودند. از طرف دیگر با انجام آبیاری غرقابی علاوه بر تماس طوقه درختان برای مدتی با آب راکد، شرایط مناسب بروز خفگی ریشه به دلیل اشباع خاک از آب نیز فراهم می شود. بیماری پژمردگی ورتیسلیومی بادام قبلاً از استان چهارمحال و بختیاری (زکیئی و پور منصوری ۱۳۷۴) و اخیراً از آذربایجان شرقی (محمدی پور و همکاران ۱۳۸۱) گزارش شده است. نکروز آوندی در درختان آلوده از بهترین نشانه های تشخیص بیماری در باغ می باشد. احتمال می رود دو عامل در آلودگی درختان بادام به ورتیسلیوم دخیل باشد. یکی احداث باغ در زمینهایی که در سالهای قبل زیر کشت محصولات زراعی حساس به ورتیسلیوم بوده است. دوم کاشت محصولات حساس یا آلوده به این قارچ بصورت توأم در باغات. در کنار این فاکتورها عدم رعایت اصول بهداشتی در انجام عملیات کشاورزی مانند هرس شاخه های درختان سالم با قیچی باغبانی آلوده به قارچ (که برای هرس درختان آلوده بکار رفته است) نیز در توسعه و انتشار بیماری مهم می باشد. عامل بیماری بصورت میکرواسکلروت

قارچهای *Aspergillus* sp., *Cylindrocarpon* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. *Rhizoctonia* و *Trichoderma* sp. از ریشه درختان بیمار جداسازی شد، در حالیکه از ریشه درختان سالم هیچ کدام از این قارچها جداسازی نگردید. ولی در شرایط تدخین خاک با کلروپیکرین قبل از بازکاری نهال های بادام، قارچهای فوق به غیر از *Aspergillus* sp. و *Rhizoctonia* sp. از ریشه درختان سالم و تمام قارچهای فوق الذکر از ریشه درختان بیمار و با درصد بیشتر جداسازی گردید (براون و همکاران، ۲۰۰۱).

لازم به ذکر است که عوامل قارچی خاکزاد تنها عامل پدیده زوال درختان بادام نمی باشد. طی اجرای این طرح از حدود ۴۰ نمونه مورد کشت در استانهای آذربایجان شرقی و چهارمحال و بختیاری هیچ میکرو اورگانسمی جدا سازی نشد. این درختان علائم زوال، کم رشدی، ضعف و در برخی موارد مرگ کامل را از خود نشان می دادند. از نظر سنی اکثر این نمونه ها در رده ۳ تا ۸ سالگی قرار داشتند. در تعدادی از این نمونه ها هیچ علائمی از پوسیدگی در سیستم ریشه یا ناحیه طوقه به چشم نخورده ولی تاج درختان به صورت ناگهانی سبز خشک شده و در نهایت درخت دچار مرگ شده بودند. در برخی نمونه ها علائم پوسیدگی در قسمت تنه اصلی کمی بالاتر از ناحیه پیوند زنی به چشم می خورد که به سمت بالا و پایین پیشروی کرده بود. در این قبیل نمونه ها علائم متفاوتی در قسمت پوسیده مشهود بود: گاه از ناحیه پوسیده مواد صمغی بصورت قطراتی به بیرون تراوش می نمود (که قبلاً کف صمغی نام داده بودند)، گاه هیچ ترشحاتی به بیرون تراوش نمی کرد ولی در حد فاصل پوست مرده و چوب تحتانی آن تراوشاتی چسبنده از شیره نباتی وجود داشته و معمولاً چوب این ناحیه تا عمق ۲-۵ سانتی متری تغییر رنگ داده (قهوه ای رنگ) و نکروز می شد. در برخی دیگر از این نمونه ها پوسیدگی محدود به تنه بوده و ریشه درخت سالم بود که در این موارد گاه با قطع تنه درخت از چند سانتی متر پایین تر از ناحیه پوسیده تنه، پس از

Tiarosporella solani تا حدودی روی ریشه های بادام بیمارزا بودند (حیدریان ۱۳۷۹). بر اساس تحقیقات بعمل آمده در نواحی مرکزی ایران سه گونه *F. oxysporum*, *Fusarium solani* و *F. compactum* بترتیب با فراوانی ۴۱، ۳۲ و ۲۷ از ریشه های فرعی درختان بادام جداسازی شدند که بیماریزایی شان روی نهال های ۶ ماهه میزبان به اثبات رسیده است. طبق نتایج حاصله نقش گونه های فوزاریوم در زوال درختان بادام در باغاتی با خاک سبک و شنی که در فصل گرم سال دچار تنش آبی شوند قابل تأمل می باشد (حیدریان و ارشاد ۱۳۷۹). بنظر می رسد عوامل قارچی اخیر (غیر از *V. dahliae*, *P. cactorum*, *A. mellea* و *R. necatrix*) در شرایط نهالستان و روی گیاهچه ها یا نهالهای جوان بادام باعث بروز علائم و در شرایط مساعد و پیشرفت بیماری باعث مرگ گردند. بطوریکه آلودگی گیاهچه های جوان بادام نهالستانها به فوزاریوم و ریزوکتونیا طی نمونه برداریهایی از نهالستانها مسجل گردیده است. لذا از نتایج این تحقیق بر می آید که یکی یا ترکیبی از این قارچها با ریشه یا طوقه درختان مبتلا به زوال همراه هستند ولی بعید به نظر می رسد عامل اصلی بروز زوال و خشکیدگی درختان چندین ساله یا مسن باشند، با اینکه بیماریزایی برخی جدایه های این قارچها مثبت است ولی شدت بیماریزایی شان متوسط یا ضعیف بوده و روی درختان بالغ و مسن نمی توانند عامل اصلی بروز زوال و خشکیدگی باشند. نیز احتمال می رود این قارچها به ریشه درختانی حمله می کنند که به دلیل تنشهای زنده یا غیر زنده ضعیف شده و از رشد و قدرت کافی برخوردار نیستند. نتایج تحقیقات جدید نیز مؤید این مطلب می باشد به طوری که نتایج حاصل از تحقیقات براون و همکاران در سال ۲۰۰۱ در خصوص بررسی عوامل اختلال بازکاری (Replant disorder) گیاهان جنس *Prunus* و از جمله بادام در کالیفرنیا نشان می دهد که در صورت عدم تدخین خاک باغ قبل از بازکاری درختان بادام،

۴- وجود کشت توأم (مانند گیاهان یک ساله سبزیجات، حبوبات، صیفی و جالیز ویا چند ساله یونجه) در دو یا سه سال اول احداث باغ. یکسان نبودن نیاز آبی محصولات توأم با نیاز آبی درختان منجر به حصول شرایط مساعد خفگی ریشه درختان و همچنین حساسیت و آلودگی این محصولات به بیماریهای خاکزاد مانند ورتیسلیوز یا پوسیدگی فیتوفترایی، باعث افزایش اینوکوم قارچی در خاک باغ شده است.

به طور کلی نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد ترکیبی از عوامل بیماریزای قارچی خاکزاد و عوامل غیر عفونی در پدیده زوال و خشکیدگی درختان بادام ایفای نقش می کنند و میزان اهمیت هر کدام از این عوامل در پدیده زوال از منطقه ای به منطقه دیگر و حتی از باغی به باغ دیگر فرق می کند و در این میان اهمیت عوامل غیر پاتوژنی قابل انکار نبوده بلکه قابل توجه می باشد.

سپاسگزاری

از همکاری صمیمانه مجربان محترم استانی، آقای دکتر ارشاد و کلیه همکاران محترم بخش تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی آذربایجان شرقی که در طول اجرای طرح زحمت فراوان کشیدند سپاسگزاری می گردد.

مدتی پا جوشهایی بصورت نرک از ناحیه طوقه رشد می نمود. در منطقه فرخ شهر چهارمحال و بختیاری در برخی درختان رقم مامایی عارضه جدا شدگی پوست از چوب در ناحیه طوقه و پوسیدگی و شانکر در تنه به چشم می خورد که بعد از مدتی پوست اندکی ترمیم یافته و در نهایت محل طوقه حالت کتابی شدن به خود می گیرد. با توجه به عدم جداسازی میکرواورگانسمی از ناحیه پوسیده چنین درختانی، زوال و خشکیدگی آنها احتمالاً در ارتباط با عوامل زیر باشند:

۱- بستر نامناسب نهال مانند حفر گودالهای کم عمق غرس نهال یا وجود لایه سخت و غیر قابل نفوذ در زمین که باعث رشد نامتناسب ریشه شده است.
 ۲- غرس نادرست و عمیق نهال در خاک و یا خاک دهی پای طوقه درختان بادام (گاه تا ارتفاع ۴۰-۳۰ سانتی متری) که منجر به مدفون شدن محل پیوند در زیر خاک شده و بدلیل حساسیت این ناحیه به رطوبت زیاد پوسیدگی طوقه و خفگی ریشه رخ داده است.

۳- آبیاری به روش غرقابی و ایجاد گودال در اطراف طوقه درختان که باعث اشباع شدن خاک از آب (به خصوص در باغاتی با بافت سنگین) و راکد ماندن آب در مجاورت طوقه و در نهایت خفگی ریشه شده است.

منابع

- آمارنامه کشاورزی ۱۳۸۲. آمارنامه کشاورزی سال زراعی ۸۱-۱۳۸۰. دفتر آمار و فناوری اطلاعات وزارت جهادکشاورزی.
- بهداد، ا. ۱۳۵۴. شکل‌شناسی، مناطق انتشار، اهمیت و فهرست میزبانهای قارچ *Rosellinia necatrix*. نشریه بیماریهای گیاهی، ج ۱۱، ش ۱ و ۲، ص ۷۱-۳۰.
- حیدریان، ا. ۱۳۷۹. بررسی علل زوال و مرگ درختان بادام در نواحی مرکزی ایران. خلاصه مقالات دومین کنگره علوم باغبانی ایران، کرج، ۳۳۱ صفحه.
- حیدریان، ا. و ارشاد، ج. ۱۳۷۹. بروز پوسیدگی فوزاریومی ریشه‌های فرعی بادام در اثر تنش‌های آبی در نواحی مرکزی ایران. خلاصه مقالات دومین کنگره علوم باغبانی ایران، کرج، ۱۱۳ صفحه.
- خباز، ح. و اسدی، پ. ۱۳۷۴. بررسی اثرات آنتاگونیستی تریکودرما و گلیوکلادیوم روی *Armillaria mellea* (Vahl.) Kummer، عامل پوسیدگی ریشه درختان در شرایط آزمایشگاه. خلاصه مقالات دوازدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، ۱۲۳ صفحه.
- زکیی، ز. و پورمنصوری، ط. ۱۳۷۴. جداسازی قارچ *Verticillium dahliae* از درختان بادام استان چهارمحال و بختیاری. خلاصه مقالات دوازدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، ۲۳۵ صفحه.
- سرتیپی، ا. و بنی‌هاشمی، ض. ۱۳۷۷. نقش گونه‌های *Phytophthora* در زوال درختان میوه هسته‌دار در استان فارس. خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، ۲۲۴ صفحه.
- فاطمی، ج. ۱۳۵۶. زوال درختان بادام و گونه‌های فیتوفترای جدا شده از آنها در استان فارس. خلاصه مقالات سومین کنگره گیاهپزشکی ایران، ۳۳ صفحه.
- محمدی‌پور، م.، دیزجی‌ایلخچی، ا. و ارشاد، ج. ۱۳۸۱. جداسازی قارچ *Verticillium dahliae* از درختان بادام استان آذربایجان شرقی. خلاصه مقالات پانزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، کرمانشاه، ۲۳۴ صفحه.
- Browne, G. T. and Viveros, M. 1998. Diverse symptoms and tree losses caused by *Phytophthora* spp. in California almonds. *Acta Horticulturae*, 470: 570-575.
- Browne, G. T. and Viveros, M. 1999. Lethal cankers caused by *Phytophthora* spp. in almond scions: specific etiology and potential inoculum sources. *Plant Disease*, 83: 739-745.
- Browne, G. T., Bulluck, I. R., Connell, J. E., Trout, T. and Schneider, S. 2001. Determining unknown causes for replant disorder of *Prunus* species in California. *Proceedings of Annual Research Conference on Methyl Alternatives*, 102-1 to 102-4.
- Guillaumin, J. J., Pierson, J. and Grassely, C. 1991. The susceptibility to *Armillaria mellea* of different *Prunus* species used as stone fruit rootstocks. *Scientia Horticulture*, 46: 43-54.
- Grassely, C. and Duval, H. 1997. L'aimandier: Centre technique interprofessionnel des fruits et legumes (Ctifl), 167 pp.
- Luisi, N., Ciccarese, F., Sicoli, G. and Amenduni, M. 1994. Outbreaks of verticillium wilt on almond and pathogenic variations among isolates of *V. dahliae*. *First International Congress on Almond, Agrigento, Italy. Acta Horticulturae*, 373: 287-292.
- Luisi, N. and Sicoli, G. 1993. Severe dieback of almond trees in Italy caused by *Verticillium dahliae* kleb. *Italia Informatore-Fitopatologico*, 43: 2(Abstracts).
- Mol, L., Vanhalteren, J. M., Scholte, K. and Struik, P. C. 1996. Effects of crop species, crop cultivars and isolates of *Verticillium dahliae* on the population of microsclerotia in the soil and consequences for crop yield. *Plant Pathology*, 45: 204-214.
- Singleton, L. L., Mihail, J. D. and Rush, C. M. 1992. *Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi*. APS Press, USA, 265 pp.

Fungal agents associated with root and crown rot of almond trees decline in East Azarbaijan, Semnan, Yazd and Chaharmahal-Va-Bakhtiari provinces

Dizadji¹, A. Zaker, M. Esmailzadeh, S. A., Heidarian, A. and Ershad, D.

Abstract

Almond is the second important nut fruit in Iran with 152846 h. planting area and 107445 ton production in 2002. Decline disease resulting in death of almond trees is one of the damaging problems in almond gardening. During 2000-2003 almond gardens of East Azarbaijan, Chaharmahal-Va-Bakhtiari, Yazd and Semnan provinces were surveyed and necrotic and/or cankerous tissues of root and crown of almond trees with decline, poor growth, yellowing, wilting and death symptoms on foliage were sampled. Small segments of infected tissues were disinfected with NaClO 0.5 % and cultured on PDA, acidified PDA, CMA-PARP media. *Phytophthora cactorum*, *Verticillium dahliae*, *Armillaria mellea*, *Rosellinia necatrix*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *F. compactum*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Cylindrocarpon* sp., *Alternaria* sp., *Penicillium* sp. and *Trichoderma* sp. were isolated. In pathogenicity tests, *Phytophthora cactorum*, *Verticillium dahliae*, *Armillaria mellea* and *Rosellinia necatrix* were highly pathogenic on 2-3 years-old almond seedlings and caused root and/or crown necrosis resulting in sharp foliage symptoms and death, but tissue necrosis symptom was observed on crown area of those inoculated with *Rhizoctonia solani* and *Macrophomina phaseolina* and roots of inoculated seedlings with *Fusarium* spp. Poor foliage symptoms appeared only in *R. solani* and *F. oxysporum* treatments. An isolate of *Cylindrocarpon* sp. was pathogenic only on 6-months-old seedlings. Four previous described fungi are principle soil-borne phytopathogenic fungal agents of almond trees decline and death, but are not the only causal agents. So a complex of soil-borne pathogenic fungi and noninfectious factors such as deep planting of seedlings, wrong irrigation methods and nonsuitable gardening practices are the causal agents of almond decline and death.

Keywords: Almond decline, *Armillaria*, *Verticillium*, *Phytophthora*, *Rosellinia*

1. Plant Pests and Diseases Department, Agricultural and Natural Resource Center of East Azarbaijan, Semnan, Yazd, Chaharmahal-Va-Bakhtiari and Plant Pests and Diseases Institute, Tehran