

بررسی بیماری پوسیدگی تنه و ریشه درختان ااقیا در استانهای تهران و سمنان

Study of root and stem rot of black locust trees in
Tehran and Semnan provinces

منصوره میرابوالفتحی و جعفر ارشاد
موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی

چکیده

از سال ۱۳۷۱ مرگ تعداد زیادی از درختان ااقیا با علائم پوسیدگی تنه و ریشه در جنگل کاریهای، فضای سبز و پارکهای، تهران، کرج و گرمسار مشاهده گردید. عامل بیماری ضمن حمله از محل اتصال ریشه‌ها به ریشه اصلی سبب تغییر رنگ و نکروز پوست داخلی و چوب شده، این نشانه‌ها تا قسمتهای تحتانی تنه نیز گسترش یافته و نهایتاً علائم پوسیدگی دور تا دور تنه را احاطه میکند. باکشت بافتهای تغییر رنگ یافته، پوست، چوب ریشه و تنه درختان آلوده بر روی محیط نیمه انتخابی، جدایه‌هایی از گونه‌های قارچ *Phytophthora* شامل *Phytophthora citrophthora*، *P. drechsleri* و *P. nicotianae* جدا گردید. بیماری‌زایی گونه‌های فوق بر روی گیاهچه ااقیا در مرحله ۲-۳ برگی به اثبات رسید. جداسازی و اثبات بیماری‌زای جدایه‌های فوق نشان داد که عامل بیماری پوسیدگی ریشه و تنه درختان ااقیا در استانهای تهران و سمنان ایران گونه‌های *Phytophthora* است.

مقدمه

پوسیدگی ریشه درختان ااقیا در اثر حمله قارچ *Phytophthora cinnamomi* Rands از میری‌لند توسط کراندل (Crandall, 1936) و از چین توسط هو و همکاران (Ho, et al., 1983) و هوانگ وانگ (Huang & Wang, 1983) گزارش گردیده است. هم‌چنین از ریشه‌های پوسیده درختان نوعی ااقیا (*Robinia hüllieri*) در جنوب انگلستان گونه *P. citricol* Sawada توسط استراتز و همکاران (Strouts, et al., 1985) جدا گردید. فریزی (Frezzi, 1950) از آرژانتین

P. citrophthora (Smith et Smith) Leonian را از درختان مبتلا به پوسیدگی تنه بدست آورده است.

مرگ گیاهچه و نهال این گیاه در نهالستانها و خزانه‌ها نیز توسط لامبرت و کراندال (Lambert & Crandall, 1936) از آمریکا و دیویس و همکاران (Davis et al., 1942) در اثر حمله *P. nicotianae* (B, de Haan) و توسط کراندال و هارتلی (Crandall & Hartley, 1938) در اثر حمله *P. cactorum* (Lebert et Cohn) Schroeter گزارش گردیده است.

در ایران نخستین بار مرگ گیاهچه افاقیا در خزانه‌های جنگلی کرج با عامل *P. drechsleri* Tucker و پس از آن در نهالستانهای جنگلی مازندران و تهران با عوامل *P. nicotianae* و *P. cryptogea* Pethybridge et Lafferty جدا و گزارش گردید (میرابوالفتحی و ارشاد، ۱۳۷۰).

از سال ۱۳۷۱ مرگ درختان افاقیا بطور وسیع در پارکها و فضای سبز تهران مشاهده و جداسازی قارچ *P. citrophthora* از درختان مبتلا گزارش گردید (میرابوالفتحی و ارشاد، ۱۳۷۴) ضمن بررسیهای اخیر این بیماری در پارکها و فضای سبز مناطق مختلف شهرداری تهران، گرمسار و کرج مورد مطالعه قرار گرفته است.

روش بررسی

الف - جداسازی و خالص سازی عامل بیماری

بدین منظور قطعاتی از سوج تنه و ریشه درختان بیمار به دو روش بدون ضد عفونی و با ضد عفونی با استفاده از آب اکسیژنه ۵٪ در صد به مدت ۲ دقیقه ضد عفونی و سپس ۲ دقیقه در آب مقطر سترون قرار داده شد و پس از چند بار شستشو و خشک نمودن با کاغذ صافی سترون روی محیط آرد ذرت آگار (CMA) و یا PARPH (Mitchell & Kannwischer, 1978)، دارای ریفامپیسین ۱۰ mg، پیماریسین ۱۲ mg، هی مکسازول ۵۰ mg، PCNB ۱۰۰ mg و آمپی سیلین ۲۵۰ mg دز هر لیتر CMA کشت گردید و سپس در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری، و پس از آشکار شدن روئیده قارچ، قطعاتی از آن به محیط کشت آب آگار (Water agar) منتقل و از آنها کشت نوک ریشه تهیه گردید.

ب- جدایه‌های مورد بررسی

در این بررسی مجموعاً ده جدایه مورد مطالعه قرار گرفت که در جدول (۱) مشخصات آنها گنجانیده شده است.

جدول ۱- جدایه‌های گونه‌های *Phytophthora* بدست آمده از بافت‌های آلوده درختان افاقیا

Table 1. Isolates of *Phytophthora* species recovered from infected tissues of Black locust trees.

شماره جدایه Isolate No.	محل جمع‌آوری Locality	تاریخ جمع‌آوری Date of collection	گونه قارچ Species
1	Karadj	28.08.92	<i>P. drechsleri</i>
2	Garmsar (Afforestation)	03.08.92	<i>P. drechsleri</i>
3	Tehran (District 5) Shahed park	05.10.95	<i>P. citrophthora</i>
4	Tehran (District 7) Azadegan park	30.10.94	<i>P. citrophthora</i>
5	Tehran (District 12) Golsar park	13.10.94	<i>P. citrophthora</i>
6	Tehran (District 16) Municipality landscape	19.05.96	<i>P. nicotianae</i>
7	Tehran (District 19) Haram park	07.08.96	<i>P. nicotianae</i>
8	Tehran (District 18) Tuba afforestation	30.10.96	<i>P. nicotianae</i>
9	Tehran (District 17) Imam park	05.12.96	<i>P. nicotianae</i>

ج- اثر حرارت

برای تعیین اثر حرارت در رشد رویشی قارچ از محیط کشت CMA استفاده گردید و قطعه‌ای به قطر ۵ میلی‌متر از میسلیم جوان قارچ در مرکز هر تشتک پتری محتوی محیط کشت مذکور قرار داده شد و سپس به دمای مورد نظر انتقال داده شد. تعداد تشتک در هر دمای مورد آزمایش چهار عدد برای هر جدایه بود، رشد روئیده قارچ در دمای ۵ تا ۴۱ به فاصله هر سه درجه سانتیگراد و پس از ۵ روز اندازه‌گیری گردید.

به منظور اثبات بیماریزایی گونه‌های جدا شده، ابتدا بذور افاقیا با هیپرکلریت سدیم ۰/۵ درصد (وایتکس تجارتی ۱۰ درصد) ضد عفونی و در شرایط سترون در گلدان کشت گردید، و در مرحله ۲ تا ۳ برگی مایه زنی گردیدند، بدین منظور از هر گونه جدیدترین جدایه که کمتر روی محیط مصنوعی جایجا شده بود انتخاب، روی محیط CMA کشت، و با قرار دادن بذور شاهدانه روی محیط مذکور تا کلونیزه شدن کامل بذور شاهدانه، تستک‌ها در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری گردید. سپس بذور به آب مقطر سترون انتقال داده شده و پس از تولید اسپورانژیوم به مدت نیم ساعت در دمای ۱۰ درجه سانتیگراد نگهداری و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط آزمایشگاه با دمای ۲۵-۲۲ درجه سانتیگراد نگهداری گردید و نهایتاً یک میلی لیتر از سوسپانسیون $10^4 \times 8$ ژئوسپور در هر میلی لیتر در کنار هر گیاهچه با زخم و بدون زخم ریخته شد.

نتیجه و بحث

الف- اهمیت بیماری

در چند ساله اخیر مرگ درختان افاقیا با علائم پوسیدگی تنه و ریشه بخصوص در مورد افاقیا پیوندی به طور وسیع در فضای سبز نواحی مختلف شهر تهران، کرج و در جنگل‌های مصنوعی گرمسار مشاهده گردید (جدول ۱). این بیماری سبب از بین رفتن تعداد زیادی از درختان افاقیا در پارکها، بلوارها و جنگل‌کاریها می‌گردد. جداسازی عامل بیماری از نهالهای نهالستانهای تولید این گیاه در کرج و استان مازندران (نهالستان جنگلی دشت نظیر)، (میرابوالفتحی و ارشاد ۱۳۷۰)، گویای انتقال بیماری از خزانه و نهالستان به فضای سبز شهری است که در صورت نامناسب بودن شرایط برای گسترش و شدت بیماری، درخت با درصد کمی از پوسیدگی ریشه تا سنین ۲۵-۲۰ بیماری را تحمل کرده و علائم هوایی بیماری را نشان نمی‌دهد، لیکن با تغییر طراحی فضای سبز اطراف درخت به چمن و گیاهان با نیاز آبی بالا، توسعه بیماری در تمامی ریشه و طوقه تسهیل شده و مراحل مختلف پیشروی بیماری از کمرنگ شدن برگها، خشکیدگی نیمی از درخت و یا تمامی آن بصورت ردیفی و در دهها درخت مجاور هم در مدت یک یا دو سال در مناطق مورد اشاره مشاهده شده است (شکل ۲).

ب- نشانه‌های بیماری

از نسوج آلوده و ریشه درختان بیمار افاقیا سه گونه قارچ *P. drechsleri* Tucker، *P. citrophthora* (Smith & Smith) Leonian و *P. nicotianae* Van Breda De Haan جدا گردید که در زیر به شرح نشانه‌های حاصل از هر یک پردازیم.

علائم بیماری روی درختان مبتلا در مواردی که *P. drechsleri* جدا گردید به صورت پوسیدگی ریشه اصلی و لهیدگی و تغییر رنگ ریشه مشهود بود.

در مواردی که *P. nicotianae* جدا گردید. علائم در شروع آلودگی با نکرز موضعی محل اتصال ریشه به تنه درخت مشاهده و قارچ از محل لکه‌ها جدا می‌گردید. در مراحل بعدی توسعه آلودگی نسوج آسیب دیده در جهت تنه و قسمت‌های فوقانی درخت ادامه می‌یابد، در این مراحل در حالیکه پوست خارجی سالم بنظر می‌رسد لایه‌های درونی آن تغییر رنگ یافته متمایل به زرد است و دچار پوسیدگی می‌شود که با پوسیدگی نسوج دور تا دور تنه، علائم پژمردگی مشاهده می‌شود. در مراحل پیشرفته بیماری، لهیدگی نسوج همراه با حمله عوامل ساپروفیت مانند باکتریها و گونه‌های فوزاریوم حتی تا ۵۰-۴۰ سانتیمتر بالای خاک در قسمت‌های درونی پوست، کربکس، آوندهای آبکش و چوبی مشاهده می‌شود و در مراحل آخر در صورت کاشت عمیق درخت در خاک و وجود زیادی آب به علت کشت چمن و خاک‌های سنگین اطراف درخت، ریشه‌های اصلی و فرعی نیز بطور کامل پوسیده می‌شوند.

در مواردی که *P. citrophthora* جدا گردید نیز بیشتر علائم شبیه آلودگی به *P. nicotianae* به صورت پوسیدگی نسوج پوست درونی، آبکش و چوب تنه درخت تا ارتفاع ۸۰-۵۰ سانتیمتر بالای خاک مشاهده شد. درصد بالایی از ریشه‌های اصلی و فرعی سالم بودند، در حالیکه نسوج دور تا دور تنه پوسیده درخت پژمرده و زرد شده و لهیدگی نسوج آلوده همراه با حمله باکتریهای ساپروفیت با بوی لهیدگی نسوج از فاصله دور به مشام می‌رسد.

ج- عامل بیماری

ویژگیهای سه گونه فیتوفترا جدا شده از نسوج تنه و ریشه درختان اقاویا مبتلا به پوسیدگی تنه و ریشه، پژمردگی و مرگ، مربوط به مناطق مختلف شهر تهران، کرج و گرمسار به شرح زیر می‌باشد.

P. citrophthora

روئیده قارچ بیرنگ با ریشه‌های باریک $5-6 \mu m$ شکل رویش در بعضی جدایه‌ها بدون ساختار و در تعدادی دارای شکل رویشی شعاعی است، فاقد آماس ریشه روی ریشه‌های معمولی، عدم تولید اسپورانژ در محیط کشت جامد و تولید آن در محیط‌های مایع، با اسپورانژیوفور نازکتر از ریشه‌های معمولی، اسپورانژیوفور در مواردی سیمپودیال با فاصله زیاد از یکدیگر و آماس‌هایی بر روی آن مشاهده می‌شود، اسپورانژ گلابی وارونه، متمایل به کروی، بیضوی دارای پاییل مشخص و در مواردی دارای دو پاییل، در اکثر جدایه‌ها غیر ریزان و در یک جدایه ریزان با دنباله‌ای حدود ۱۰ میکرومتر، ابعاد اسپوراژ $37-19 \times 54-31$ اغلب $32-27 \times 47-38$ با متوسط 29×41 میکرومتر، کلامیدوسپور و اندامهای جنسی مشاهده نگردید، دماهای ویژه کمینه ۵، بهینه ۲۶-۲۳ و بیشینه ۳۲ درجه سانتیگراد که در حرارت ۳۵ درجه سانتیگراد قارچ از بین رفت (Waterhouse & Waterson, 1964).

P. drechsleri

روئیده قارچ بیرنگ، بارشد سریع، ظاهر کلنی کمی شعاعی، تا یکنواخت. عرض ریشه (۹-۳) میکرومتر، آماس ریشه به تعداد کم در محیط جامد تشکیل و با قرار دادن قطعاتی از محیط هویج حامل میسلیم قارچ در آب مقطر سترون بصورت شبکه مانند یا زنجیر وار به هم متصل می شوند، به شکل کره، بیضی، زاویه دار یا نامنظم میباشند. اسپورانژیوفور بصورت سیمپودیال و پرولیفراسیون منشعب می شود. در محیط مایع بسهولت تشکیل و سرعت زئوسپورها تفکیک و آزاد میگردند و اشکال اسپورانژی بیضوی، گلابی وارونه، تخم مرغی در پایه باریک می شوند، فاقد پاییل با منفذ خروجی عریض و ابعاد $24-38 \times 60-35$ و بطور متوسط $30/6 \times 49/2$ میکرومتر و نسبت طول به عرض $1/6$ می باشد، اندامهای جنسی در کشتهای منفرد تشکیل نگردید، حرارتهای ویژه این جدایه ها کمینه ۷، بهینه ۲۷-۳۰ و بیشینه ۳۸ درجه سانتی گراد است (Ershad, 1971, Stamps, et al., 1990).

P. nicotianae

رشد قارچ روی محیط کشت جامد (CMA, PDA) کند است. روئیده ابتدا بدون ریشه هوایی ولی سرانجام بصورت ضعیف پنبه ای میشود. منظره روئیده از پشت پتری گل سرخی است. ریشه تازه تقریباً یکنواخت اما ریشه کهنه، نامنظم و غیر یکنواخت و بصورت درختچه ای منشعب اند، ریشه های هوایی که دیرتر ظاهر میشوند یکنواخت و نازک تر هستند، فاقد آماس ریشه، کلامیدوسپور با تاخیر و در محیط کشت HBA (Haricot Bean Agar) به فور تشکیل گردید. شکل آن کروی و بصورت میانی و یا انتهایی تشکیل شد. رنگ آن زرد متمایل به قهوه ای روشن و قطر آن ۱۵-۴۰ و ضخامت دیواره آن ۳-۴ میکرومتر است.

اسپورانژی روی محیط جامد و در محیط مایع تشکیل میشود شکل آن تخم مرغی عریض، بیضوی، گلابی وارونه، بصورت انتهایی تشکیل شد، تعدادی از اسپورانژیوفورها با دنباله ای کوتاه (۲-۳ میکرومتر) جدا شده و می ریزند. ابعاد آنها با قرار دادن قطعات محیط HBA حاوی میسلیم در آب مقطر $22-55 \times 28-68$ اغلب $31/01 \times 39/40$ و بطور متوسط 33×34 میکرومتر، نسبت طول به عرض $1/25$ است (Ho, 1981; Ersad, 1971; Stamps, et al., 1990).

فرم جنسی در هیچیک از جدایه ها بطور منفرد تشکیل نگردید، دماهای ویژه کمینه ۱۱، بهینه ۲۹-۳۰ و بیشینه ۳۸ درجه سانتیگراد است.

اثبات بیماری زایی

علائم بیماری ۱۰ روز پس از مایه زنی بصورت آب گز و تغییر رنگ کرم متمایل به قهوه ای و پوسیدگی انساج ریشه و در نهایت مرگ گیاهچه مشاهده گردید، تفاوتی از نظر درصد مرگ و میر و یا زمان مرگ گیاهچه ها و علائم، بین سه گونه مایه زنی شده مشاهده نگردید.



شکل ۱- مرگ و میر زیاد درختان بیست ساله اقاویا مبتلا به پوسیدگی ریشه و تنه در پارک امام
 Fig.1. Twenty year old Black locust trees in Imam park with a high incidence of
 dead trees due to *phytophthora* root and stem rot.



شکل ۲ و ۳- نشانه زوال پوسیدگی قسمتهای تحتانی تنه در درختان آلوده به *P. nicotianae*
 Fig. 2,3. Aelining tree lower trunk of the trees with typical stem rot symptoms of
P. nicotianae

سپاسگزاری

نگارندگان از همکاریهای آقایان مهندس اعرابی، مهندس میرزالی، مهندس عباسی و مهندس پورآرین مسئولین فضای سبز مناطق ۲۰ گانه شهر تهران و آقای عباس شیشه‌گران کاردان بخش تحقیقات بیماریهای گیاهان تشکر می‌نمایند.

نشانی نگارندگان: مهندس منصوره میر ابوالفتحی، دکتر جعفر ارشاد، موسسه تحقیقات آفات و

بیماریهای گیاهی، صندوق پستی ۱۴۵۴، تهران ۱۹۳۹۵

