

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* 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 $10^4 \times 1$ 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