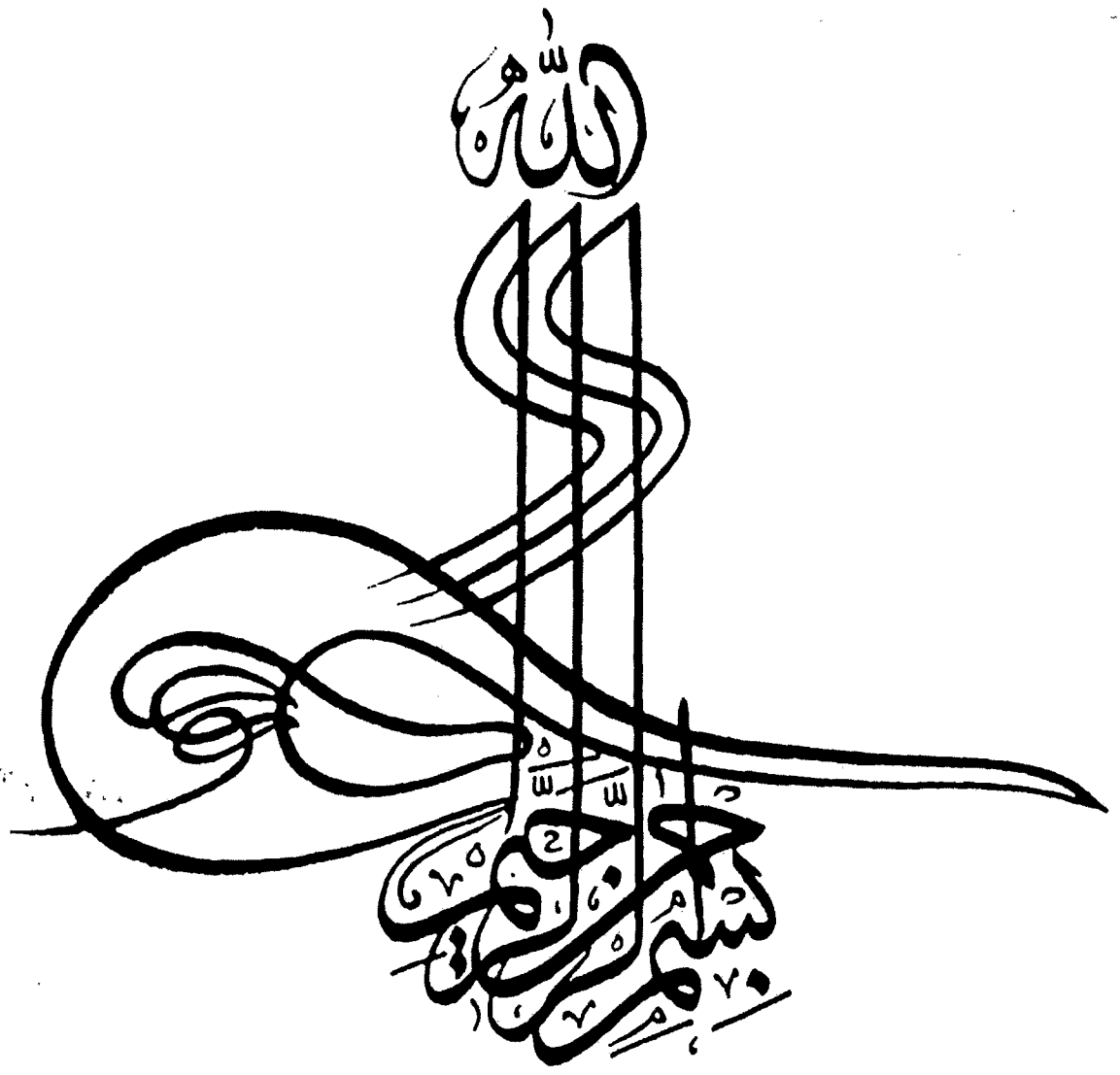


١١٦٠٧٠

دانشکده علوم کشاورزی
گروه گیاهپزشکی
بیماری شناسی گیاهی

عنوان:

بررسی ساختار جمعیتی و توسعه قارچ *Cryphonectria parasitica* عامل بیماری سوختگی درختان شاه‌بلوط بر اساس تعیین گروههای سازگار رویشی

از:

شقایق مهدی‌نژاد مقدم

استاد راهنما:

دکتر سید اکبر خداپرست

آخرین اطلاعات مدارک علمی دریافت
تسویه مدارک
۱۳۸۸/۶/ ۱۱

استادان مشاور:

دکتر سالار جمالی

دکتر محمد جعفر فارسی

اسفند ۸۷

معاونت تحصیلات تکمیلی
دانشگاه گیلان

۱۱۶۰۷۰

تقدیم به درخشانترین ستارگان آسمان زندگی‌ام

پدر و مادر بزرگوارم

که وجودشان روشنایی بخش هستی‌ام بوده و همواره در جهت رشد و تعالی من تلاش نموده‌اند

و خواهران عزیزم

همراهان همیشگی زندگی‌ام

۱۳۸۸/۶/ ۱۱

سپاس خدای را که جان را فکرت آموخت،

از استاد ارجمندم جناب آقای دکتر سید اکبر خداپرست صمیمانه سپاسگذارم که در تمام مدت این تحقیق با رهنمودهای علمی مرا مورد لطف خویش قرار دادند و از خداوند متعال سلامت و موفقیت روز افزون را برایشان آرزومندم.

از استادان مشاور گرانقدرم جناب آقای دکتر سالار جمالی و آقای دکتر محمد جعفر فارسی به خاطر ارائه نظرات و راهنمایی‌های ارزشمندشان تشکر و قدردانی می‌نمایم.

از آقایان دکتر سید علی الهی نیا و مهندس حسن پدرام فر که زحمت بازخوانی و داوری این پایان نامه را بر عهده داشتند، تشکر می کنم.

از نماینده محترم تحصیلات تکمیلی خانم دکتر حسن پور که مسؤولیت جلسه دفاع از پایان نامه را بر عهده گرفتند نیز بسیار سپاسگزارم.

از مسئولین محترم آزمایشگاه‌های بیماری‌شناسی و حشره‌شناسی آقایان مهندس مهدی سلیمی و مهندس مهیار رفعتی-فرد، به دلیل همکاری صمیمانه‌شان سپاسگذاری می‌نمایم.

از مسئول محترم واحد عکاسی جناب آقای مهندس حسام‌الدین حسینی به پاس همکاری خالصانشان، کمال تشکر را دارم.

با سپاس و تشکر فراوان از کلیه اساتید محترم گروه گیاهپزشکی که در طول دوران تحصیلم در دانشگاه از هیچ کوششی جهت راهنمائی من دریغ ننمودند.

و در آخر نیز از همه دوستانم که همواره در انجام این تحقیق مرا یاری نموده‌اند، تشکر می کنم.

شقایق مهدی نژاد مقدم

اسفندماه ۱۳۸۷ هجری شمسی

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
چکیده فارسی	ر
چکیده انگلیسی	ز
مقدمه	۱
فصل اول: کلیات و مرور منابع	۵
۱-۱- معرفی بیماری	۶
۱-۲- عامل بیماری	۷
۱-۲-۱- شکل شناسی و بیولوژی پاتوژن	۸
۱-۳- کنترل بیماری	۹
۱-۴- هایپوویرولنسی	۱۰
۱-۴-۱- خصوصیات جدایه‌های هایپوویرولنت	۱۱
۱-۴-۲- هایپوویروس‌ها	۱۳
۱-۵- سازگاری رویشی(Vegetative compatibility)	۱۶
۱-۵-۱- ژنتیک سازگاری رویشی	۱۸
۱-۵-۲- جنبه‌های مرفولوژیکی و میکروسکوپی سازگاری رویشی	۱۹
۱-۵-۳- ارزیابی سازگاری رویشی *C. parasitica* درشرایط آزمایشگاهی	۲۱
۱-۶- سازگاری جنسی (Sexual compatibility)	۲۱
۱-۶-۱- تولید مثل جنسی در هتروتالیسم	۲۲
۱-۶-۲- تولید مثل جنسی قارچ *C. parasitica*	۲۳

فصل دوم: مواد و روش ها ۲۶

۲-۱- نمونه برداری ۲۷

۲-۲- جداسازی قارچ ۲۷

۲-۳- خالص سازی قارچ ۲۸

۲-۴- شناسایی جدایه‌های *C. parasitica* ۲۹

۲-۵- بررسی تنوع گروههای سازگار رویشی (VCG) ۲۹

۲-۶-ارزیابی VC با جدایه هایپوویرولنت و انتقال هایپوویرولنسی ۳۱

۲-۷- ارزیابی سازگاری جنسی و تعیین تیپ های آمیزشی ۳۱

۲-۸- بررسی مشخصات مرفولوژیکی جدایه‌های حاصل از تلاقی تیپ‌های آمیزشی ۳۳

۲-۹- بررسی قدرت جوانه‌زنی آسکوسپورهای حاصل از تلاقی تیپ‌های آمیزشی ۳۳

۲-۱۰- بررسی خسارت و گسترش بیماری ۳۴

فصل سوم: نتایج ۳۶

۳-۱- خصوصیات مرفولوژیکی جدایه‌های *C. parasitica* روی محیط کشت PDA ۳۷

۳-۲- بررسی ساختار جمعیتی جدایه‌های *C. parasitica* توسط گروه‌های سازگار رویشی(VCG) ۴۶

۳-۳- انتقال هایپوویرولنسی در بین جدایه‌های *C. parasitica* در شرایط آزمایشگاهی ۵۲

۳-۴- ارزیابی سازگاری جنسی و تیپ های آمیزشی (Mating Type) ۵۳

۳-۵- خصوصیات مرفولوژیک جدایه های *C. parasitica* حاصل از تلاقی تیپ‌های سازگار آمیزشی ۵۸

۳-۶- قدرت جوانه زنی آسکوسپورهای حاصل از تلاقی تیپ‌های آمیزشی ۶۱

۳-۷- ارزیابی درجه خسارت و بررسی گسترش بیماری ۶۱

فصل چهارم: بحث ۶۶

۴-۱- گروههای سازگار رویشی (VCG) جدایه‌های *C. parasitica* ۶۷

۴-۲- انتقال هایپوویرولنسی در بین جدایه‌های *C. parasitica* ۷۰

۴-۳- تیپ های آمیزشی (Mating Type) در *C. parasitica* ۷۱

۴-۵-ارزیابی خسارت و گسترش بیماری سوختگی شاه بلوط ۷۳

نتیجه گیری کلی ۷۶

پیشنهادات ۷۷

فهرست منابع ۷۸

فهرست جداول

عنوان

جدول ۲-۱- تاریخ و مکان نمونه های جمع آوری شده از مناطق مختلف استان گیلان ۲۷

جدول۲-۲- طبقه بندی درجه خسارت درختان شاه بلوط در اثر بیماری سوختگی ۳۵

جدول ۳-۱- جدایه های بدست آمده از منطقه دوران (رضوانشهر) ۳۸

جدول ۳-۲- جدایه های بدست آمده از منطقه ویسرود (شفت) ۳۹

جدول ۳-۳- جدایه های بدست آمده از منطقه طالقان (شفت) ۴۱

جدول ۳-۴- جدایه های بدست آمده از بابارکاب (شفت) ۴۲

جدول ۳-۵- جدایه های بدست آمده از غریب آباد (لاهیجان) ۴۲

جدول ۳-۶- جدایه های بدست آمده از شاه بلوط محله (لاهیجان) ۴۳

جدول ۳-۷- جدایه های بدست آمده از رشت ۴۳

جدول۳-۸- پراکنش گروه های سازگار رویشی جدایه های *C. parasitica* در مناطق تحت بررسی استان گیلان ۴۹

جدول ۳-۹-تعداد تیپ‌های آمیزشی جدایه های مورد بررسی ۵۳

جدول ۳-۱۰ - تیپ آمیزشی تعدادی از جدایه های قارچ *C. parasitica* در منطقه رضوانشهر(دوران) و شفت (ویسرود، طالقان و بابارکاب) ۵۴

جدول۳-۱۱- نسبت تیپ‌های آمیزشی (MAT-1:MAT-2) جدایه های *C.parasitica* در گروههای VC شناسایی شده ۵۶

جدول ۳-۱۲- خصوصیات مرفومتریک جدایه های *C.parasitica* ۵۸

فهرست شکل ها

عنوان

شکل۲-۱- تعیین تیپ‌های آمیزشی جدایه‌های *C. parasitica* روی ساقه *C. sativa* در دوره روشنایی- تاریکی ۸ ساعت در روز و دمای ۱± ۱۸درجه سانتی‌گراد درون انکوباتور ۳۳

شکل ۳-۱- تشکیل پیکنیدیوم‌های کم و پراکنده در سطح محیط کشت PDA، پایین بودن میزان تولید رنگدانه و محدود بودن در مرکز کلنی در قارچ *C. parasitica* ، تحت شرایط روشنایی در روز ۴۴

شکل۳-۲- تشکیل پیکنیدیوم‌های زیاد و قرارگیری آنان به صورت دوایر متحدالمرکز و منظم در سطح محیط کشت PDA و تولید رنگدانه به رنگ نارنجی روشن در قارچ *C. parasitica* تحت شرایط روشنایی در روز ۴۴

شکل ۳-۳- پوشش متراکم و انبوه میسیلیوم های هوایی در سراسر سطح کلنی قارچ *C. parasitica* و تولید رنگدانه فراوان به رنگ نارنجی متمایل به قهوه ای با حاشیه یکنواخت و صاف ۴۵

شکل ۳-۴- حاشیه لوب دار پروانه ای شکل قارچ *C. parasitica* با تشکیل پیکنیدیوم های بزرگ تیره رنگ به طور متراکم در سطح محیط کشت PDA ۴۵

شکل۳-۵- ارزیابی سازگار رویشی بین جدایه های مختلف قارچ *C. parasitica* پس از گذشت ۵ روز در شرایط تاریکی و سپس ۳ روز در روشنایی ۴۷

شکل ۳-۶- سازگاری رویشی جدایه های *C. parasitica* جمع آوری شده از رشت (Ra) پس از گذشت ۸ روز تحت شرایط تاریکی ۴۸

شکل۳-۷- تعیین چهار گروه سازگار رویشی IR-1(VCG) تا IR-4 در میان جمعیت های مختلف قارچ *C. parasitica* در استان گیلان ۴۸

شکل ۳-۸- پراکنش گروههای سازگار رویشی (VCG) جدایه های قارچ *C. parasitica* در مناطق تحت بررسی استان گیلان ۵۱

شکل۳-۹- انتقال هایپوویرولنسی بین جدایه های مختلف *C. parasitica* در شرایط آزمایشگاه ۵۲

شکل۳-۱۰- پریتسیوم های بالغ حاصل از تلاقی تیپ های آمیزشی سازگار در *C. parasitica*، پس از نگهداری در دمای ۱۸ درجه سانتی گراد و دوره روشنایی ۸ ساعت در روز به مدت ۴ ماه درون انکوباتور ۵۵

شکل ۳-۱۱- عدم توانایی باروری و تشکیل نیافتن پریتسیوم در آمیزش دو جدایه *C. parasitica* از یک تیپ آمیزشی (MAT-1) ۵۵

شکل۳-۱۲- باروری جنسی در تلاقی جدایه‌های *C. parasitica* با تیپ‌های آمیزشی سازگار (MAT-1 و MAT-2). ۵۷

شکل ۳-۱۳- پریتسیوم، آسک و آسکوسپورهای قارچ *C. parasitica* حاصل از تلاقی تیپ‌های سازگار آمیزشی ۵۹

شکل۳-۱۴- جوانه زنی آسکوسپورهای *C. parasitica* حاصل از تلاقی تیپ های سازگار آمیزشی ۶۰

شکل۳-۱۵- ارزیابی خسارت ناشی از *C. parasitica* در درختان تحت بررسی در شاه بلوط محله در سال ۸۷ ۶۲

شکل۳-۱۶- ارزیابی خسارت ناشی از *C. parasitica* در درختان تحت بررسی در غریب آباد در سال ۸۷ ۶۲

شکل۳-۱۷- مقایسه شاخص شرایط سلامتی درختان شاه‌بلوط در دو منطقه شاه‌بلوط محله و غریب‌آباد در سالهای ۸۵، ۸۶ و ۸۷ ۶۳

شکل۳-۱۸- خشکیدگی سر شاخه‌های تاج درخت شاه‌بلوط ناشی از قارچ *C. parasitica* ۶۴

شکل۳-۱۹- استروماهای نارنجی رنگ قارچ *C. parasitica* روی شاخه خشک شده درخت شاه‌بلوط ۶۴

شکل۳-۲۰- ایجاد شانکر طولی به صورت برجسته همراه با ترک های پوست بر روی تنه درخت ناشی از قارچ *C. parasitica* ۶۴

شکل۳-۲۱- علائم سوختگی با تغییر رنگ مشخص روی پوست .شاخه‌های آلوده درخت شاه‌بلوط در محل انشعاب شاخه از تنه درخت شاه‌بلوط، ناشی از قارچ *C. parasitica* ۶۴

شکل۳-۲۲- درختان شاه‌بلوط(*Castanea sativa*) صدمه دیده در اثر قارچ *C. parasitica* در منطقه شاه‌بلوط محله (لاهیجان). خسارات از نوع: خسارت درجه یک در بالا و خسارت درجه شش در پایین ۶۵

چکیده

بررسی ساختار جمعیتی و توسعه قارچ *Cryphonectria parasitica* عامل سوختگی درختان شاه‌بلوط براساس تعیین گروه‌های سازگار رویشی

شقایق مهدی نژاد مقدم

قارچ *Cryphonectria parasitica* عامل سوختگی شاه‌بلوط، از مهم‌ترین بیماری‌های شاه‌بلوط (*Castanea sativa*) در استان گیلان محسوب می‌شود. در این مطالعه به منظور بررسی ساختار جمعیتی و توسعه بیماری در این استان، از چهار منطقه آلوده شامل شهرستان های شفت، رضوانشهر، لاهیجان و رشت نمونه‌برداری انجام گرفت. تعیین گروه‌های سازگار رویشی (VCG) قارچ عامل بیماری بر اساس واکنش سد پیوندی روی محیط PDA ارزیابی شد. از مجموع ۲۷۲ جدایه قارچ *C. parasitica* شناسایی شده، چهار گروه سازگار رویشی(VCG) ایرانی شناسایی شد و میزان تنوع گروه‌های VC در هر منطقه تنها ۱ تا ۲ گروه تعیین گردید. گروه سازگار رویشی IR-1 با حضور در ۵ منطقه، گروه غالب را در میان گروه های شناسایی شده تشکیل داد که این گروه ۶۳/۲٪ مجموع جدایه ها را در بر گرفت. کمترین فراوانی متعلق به گروه IR-4 بود که با دارا بودن میزان ۳٪ کل جدایه ها، تنها در یک منطقه تعیین شد. بررسی توانایی جدایه هایپوویرولنت (کم آزار) جداسازی شده از لاهیجان به عنوان انتقال دهنده عامل dsRNA، در تبدیل جدایه های بیماری زا توسط چهار گروه VC انجام گرفت. خصوصیات فنوتیپی جدایه تستر IR-3 با انتقال موفقیت‌آمیز هایپوویرولنسی در شرایط آزمایشگاهی به یک هایپوویرولنت تغییر یافت. مطالعه تیپ‌های آمیزشی در ۵۴ جدایه *C. parasitica* از چهار منطقه انجام گرفت و سیستم تیپ آمیزشی برای بیش از ۷۰٪ جدایه ها شناسایی شد. براساس نتایج حاصل، وجود MAT-1 در همه جدایه‌ها غالب بود و میزان تیپ‌های آمیزشی به نسبت مساوی ۱:۱ در هیچ کدام از جمعیت‌های تحت بررسی، مشاهده نشد. قدرت جوانه زنی آسکوسپورهای جدایه های بارور در تلاقی از ۶۲/۱٪ تا ۵۷/۲٪ روی محیط آب-آگار متفاوت بود. درجه خسارت ایجاد شده (I_{HC}) توسط *C. parasitica* در دو منطقه شاه‌بلوط محله و غریب آباد به ترتیب، ۳/۶ و ۲/۷ تعیین شد.

کلیدواژه‌ها : *Cryphonectria parasitica*، کنترل بیولوژیکی، هایپوویرولنس، گروههای سازگار رویشی، سیستم آمیزش.

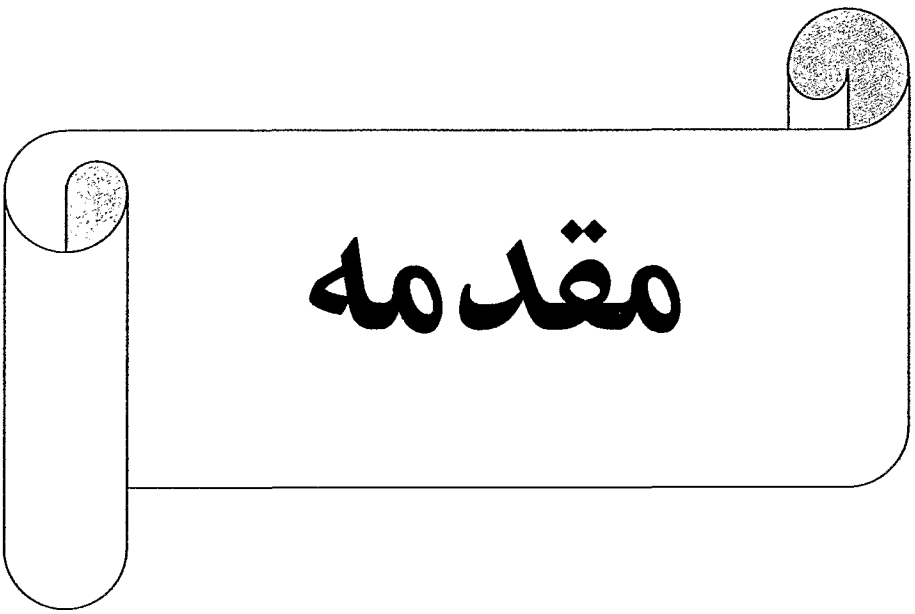
Abstract

Study of population structure and disease development of *Cryphonectria parasitica*, causal agent of chestnut blight based on vegetative compatibility groups

Shaghaygh Mahdinejad Moghadam

Chestnut blight disease caused by *Cryphonectria parasitica*, is one of the most important diseases affecting chestnut trees (*Castanea sativa*) in Guilan Province. In this research, to evaluate population structure and disease development, four infected sites from Shaft, Rezvanshahr, Lahijan and Rasht were sampeled. The survey of vegetative compatibility groups (VCGs) were assessed according to the mycelial-barrage response on PDA. Among 272 evaluated isolates four Iranian vegetative compatibility groups (VCGs) were detected and the diversity of vc groups at individual localities was varied between one and two VCGs. VC group IR-1 was the dominant group represent at five localities, with 63.2% of all isolates and the lowest abundant vc group, IR-4 occurred only in a single locality, with 3% frequencies. The ability of hypovirulent strain as dsRNA donor, originated from Lahijan, to convert virulent strain was tested for the 4 VCGs. The phenotype of IR-3 tester strain is changed into hypovirulent by the successful conversion in vitro. Mating type tests were conducted for 54 isolatesof *C. parasitica* from 4 localities, and mating type system for about 70% isolates were identified. Based on these results, MAT-1 was found to be predominate in tested isolates and the two mating types were not found in 1:1 ratio in the populations assayed. Ascospore germination ability, on water agar, varied from 57.2% to 62.1% for fertile crosses. Degree of damage (I_{HC}) caused by *C. parasitica* was 3.6% and 2.7% for Shahbalut Mahaleh and Gharib Abad, respectively.

Keywords: *Cryphonectria parasitica*, Biological control, Hypovirolence, Vegetative compatibility groups, Mating system


مقدمه

درخت شاه بلوط (*Castanea* Miller) متعلق به خانواده Fagaceae، یکی از گونه‌های رایج در جنگل‌های درختان پهن‌برگ آمریکا، اروپا، آسیا و آسیای صغیر می‌باشد. این درخت که خاص مناطق معتدله مدیترانه‌ای با زمستان‌های ملایم می‌باشد، بیشتر در نیمکره شمالی می‌روید و در این نواحی به علت شرایط معتدل آب و هوایی، دارای رشد خوب و میوه دهی مناسب است. رویشگاه طبیعی درخت شاه‌بلوط محدود به مناطق مرتفع و کوهستانی با خاک مرطوب و دارای زهکشی مناسب است. در این گیاه گل‌های نر و ماده به‌صورت جداگانه روی یک پایه ظاهر می شوند با این وجود، گرده افشانی متقابل جهت تولید میوه امری ضروری می باشد. میوه ها درون یک پوسته تیغ دار به تعداد ۱ تا ۵ فندقه وجود دارند. برگهای شاه بلوط تیره و دندانه دار و تنه آن همانند جنس نزدیک به خود، بلوط، بسیار تنومند می باشد و عمر این درختان ۵۰۰ سال هم تخمین زده می‌شود [هدایتی، ۱۳۸۱ و Anonymous, 2007].

تاکنون ۱۳ گونه از این گیاه شناخته شده است که ۷ گونه آن در آمریکا، ۵ گونه در آسیای شرقی و یک گونه در اروپا وجود دارد [Aksoy and Serdar, 2004]. گونه *Castanea dentate* (Marsh) Brock گونه بومی مهمی است که در آمریکا می روید و بخش عمده و باارزشی از جنگل‌های شاه بلوط ایالات شرقی آن از این گونه می باشد.گونه اروپایی *Castanea sativa* Miller یا شاه‌بلوط شیرین، گونه خویشاوندی است که از آسیای صغیر نیز معرفی شده است، اگر چه امروزه هیبریدهای متعددی از این درخت با سایر گونه‌های این جنس صورت گرفته است اما همچنان این گونه از درختان رایج واقع در جنوب اروپا از جمله کشورهای فرانسه، ایتالیا، اسپانیا، پرتغال و یونان به شمار می‌رود. *Castanea crenata* Siebold & Zuccarini و *Castanea mollissima* Blume به ترتیب گونه‌های ژاپنی و چینی و همچنین *Castanea seguinii* Dobe و *Castanea henryi* (Skan) Rehder et Wilson نیز از دیگر گونه های آسیایی این گیاه می‌باشند [Jankovsky *et al.*, 2004; Robin and Heiniger, 2001].

در هر سه قاره شاه‌بلوط از اهمیت اقتصادی بالایی برخوردار است. این درخت منبع فراوان و با ارزشی برای تولید الوار و استخراج تانن می باشد. چوب این درخت رنگ روشنی دارد و به دلیل وجود تانن به میزان ۱۳/۴٪ بسیار مستحکم و با دوام است. این میزان در پوست ۶/۸٪ و در غلاف میوه ۱۳-۱۰٪ می باشد. همچنین برگها نیز دارای تانن هستند. بذر شاه‌بلوط به عنوان یک میوه خوراکی بسیار مغذی و فاقد گلوتین بوده و به صورت تازه و یا فرآورده های گوناگونی همچون آرد ، پوره و شیرینی استفاده می شود. میزان مصرف زیاد آن همچون مصارف چوبی این درخت سبب گشته که شاه‌بلوط در بسیاری از کشورها به طور تجاری کشت شود و مورد بهره‌برداری قرار گیرد [Locci, 2003; Anonymous, 2007].

گونه بومی شاه‌بلوط در ایران *C. sativa* می‌باشد. رویشگاه طبیعی این درخت که در استان گیلان واقع است بخش مهم و با ارزشی از جنگل‌های این استان به شمار می‌رود. محدوده پراکنش شاه‌بلوط از سمت غرب به شرق استان شامل: جنگل‌های تالش (شفارود)، شهرستان رضوانشهر (دوران)، قلعه رودخان ، شهرستان شفت (ویسرود، بابارکاب و طالقان) و لاهیجان (غریب آباد و شاه بلوط محله) می‌باشد. رویشگاه ویسرود با مساحت بیش از ۳۰۰ هکتار وسیع‌ترین رویشگاه درخت شاه‌بلوط در استان گیلان به شمار می‌رود و در جنگل‌های بسیاری از مناطق به صورت پراکنده وجود دارد. اگرچه از قدیم پایه های این درخت در حاشیه روستاها و باغ‌ها توسط مردم کاشته شده است اما رویشگاه اصلی آن در جایی است که از اعتدال اقلیمی ناشی از شرایط خاص توپوگرافی، شرایط خاکی و زمین ساختی مناسب و در نهایت از شرایط اکولوژیکی مناسب بهره‌مند باشد [هدایتی، ۱۳۸۱].

عوامل زیادی وجود دارند که سلامت درخت شاه‌بلوط را به مخاطره می اندازند. یکی از این عوامل، بیماری سوختگی (بلایت) شاه‌بلوط است. اپیدمی این بیماری در بسیاری از مناطق کشت این درخت در دنیا صدمات فراوانی وارده کرده است. عامل بیماری سوختگی که قارچ *Cryphonectria parasitica* (Murill) Barr می‌باشد باعث آسیب به نسوج چوبی، خشک شدن سر شاخه‌ها و کاهش محصول شده و نهایتاً منجر به نابودی درخت شاه‌بلوط آلوده می‌گردد. رویشگاه‌های شاه‌بلوط در استان گیلان نیز مستثنی از این امر نمی‌باشد. شیوع بیماری بلایت در سال‌های اخیر خسارات قابل توجهی را در درختان شاه‌بلوط این استان سبب گشته است. این بیماری اولین بار توسط کاظم پور و همکاران در سال ۲۰۰۶ در استان گیلان گزارش شد. اگر چه اپیدمی این بیماری در سالهای اول چندان مورد توجه قرار نگرفت زیرا با سایر بیماری‌ها و همچنین خسارت سرمازدگی همراه بود اما هم اکنون یکی از جدی‌ترین مشکلات در اکثر جنگل‌های شاه‌بلوط استان بشمار می‌آید. طی بررسی‌های انجام شده در دنیا کنترل بیولوژیک بر اساس انتقال ویروس توسط جدایه‌های هایپوویرولنت (کم آزار) سبب بهبودی درختان مبتلا به این بیماری گردیده است و موثرترین روش مبارزه علیه قارچ *C. parasitica* در بسیاری از مناطق مختلف کشت شاه بلوط در دنیا محسوب می‌شود [Turina and Rostagno, 2007].

از آنجایی که تاکنون در زمینه مبارزه علیه این بیماری در استان تحقیقات جامعی صورت نگرفته است در این پژوهش جمعیت‌های مختلف قارچ عامل بیماری که از مناطق مختلف کشت شاه‌بلوط استان گیلان جداسازی شده بود، مورد ارزیابی قرار گرفت. وضعیت باروری جنسی و تیپ‌های آمیزشی موجود در جدایه‌های قارچ عامل بیماری نیز جهت تعیین امکان وقوع نوترکیبی از طریق تولید مثل جنسی در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. همچنین به دنبال تحقیقاتی که در سال‌های ۸۵ و ۸۶ در زمینه بررسی گسترش بیماری و بهبود درختان بیمار در مناطق مختلف استان صورت گرفته بود این ارزیابی در سال ۸۷ نیز در این مناطق دنبال شد.

به طور کلی اهداف تحقیق عبارتند از:

۱- جمع آوری جدایه‌های قارچ عامل بیماری از مناطق مختلف کشت شاه‌بلوط در استان گیلان

۲- تعیین گروههای سازگار رویشی در جمعیت‌های مختلف قارچ *Cryphonectria parasitica*

۳- بررسی وضعیت باروری و تعیین تیپ آمیزشی جدایه‌های بارور در شرایط آزمایشگاه

٤- ارزیابی توسعه بیماری بلایت شاه بلوط در استان گیلان.

کلیات و مرور

منابع

۱-۱- معرفی بیماری

زمانی که قارچ بیماری‌زای گیاهی به همراه میزبان‌های خاص برای مدت طولانی توسعه می‌یابد، اغلب یک نوع تعادل بین میزبان و عامل بیماری به وجود می‌آید که در نتیجه آن فاجعه اپیدمی بندرت اتفاق می‌افتد. زمانی که میزبان جدید و یا بدتر از آن، پاتوژن‌های جدید به محیط وارد شوند، شرایط کاملاً تغییر می کند و در بیشتر موارد نتایج خسارت باری حاصل می‌شود. بیماری سوختگی شاه‌بلوط بومی آسیا و میزبان آن گونه‌های شاه‌بلوط آسیایی می‌باشد. در آغاز قرن گذشته این بیماری توسط شاه بلوط-های آسیایی به ویژه شاه‌بلوط‌های ژاپنی (*Castanea crenata*) به ایالات شرقی آمریکای شمالی وارد شد [Locci, 2003; Anagnostakis, 1988]. شاه‌بلوط های ژاپنی و چینی (*Castanea mollissima*) خسارت چندانی را در اثر این بیماری متحمل نمی‌شوند و در برابر بیماری از خود مقاومت نشان می‌دهند [Milgroom *et al.*, 1996]. بیماری سوختگی شاه‌بلوط پس از ورود به آمریکا با سرعتی حدود ۴۰ کیلومتر در سال در مدت زمان کوتاهی در سراسر آمریکا گسترش پیدا کرد و توانست در طی کمتر از ۵۰ سال سبب تخریب ۳/۵ بیلیون اصل درخت از جنگل‌های شاه‌بلوط آمریکایی (*Castanea dentata*) گردد و در طی این مدت نیز اپیدمی آن متوقف نشد زیرا این درختان حساسیت نسبتاً بالایی به بیماری سوختگی دارند. در نتیجه این بیماری، درختان بالغ بر جا مانده بندرت در اندازه و رشد طبیعیشان ظاهر گشتند این امر موجب شد که بسیاری از درختان جنگلی دیگر جایگزین درختان شاه بلوط در آمریکا شود [1997; Robbins, 1988; Robin and Heiniger, 2001 ,Anagnostakis]. چند دهه بعد بیماری به اروپا نیز وارد شد و به سرعت در اکثر مناطق شاه بلوط کاری اروپا گسترش یافت، اگر چه شاه بلوط اروپایی (*Castanea sativa*) حساسیت کمتری در مقایسه با گونه آمریکایی نسبت به این قارچ دارد با این وجود اپیدمی مشابهی را در این مناطق به وجود آورد. این بیماری تاکنون از ۱۳ کشور اروپایی گزارش شده است که از جمله مهم‌ترین آنان ایتالیا، اسپانیا، فرانسه، اسلواکی، چک و آلمان می‌باشند. با وجود اینکه برخی از این مناطق مجدداً به طور طبیعی بهبود یافته و از انقراض حتمی نجات پیدا کرده‌اند اما بسیاری از جنگل‌های شاه‌بلوط در اروپا دچار آسیب جدی شده‌اند [Robin and Heiniger, 2001; Cortesi, 1996]. در آسیا نیز بیماری سوختگی شاه‌بلوط صدمات فراوانی را وارد کرده است. در کشور ترکیه که کشت تجاری درخت شاه بلوط در آن دارای مقام سوم بعد از کشورهای چین و کره جنوبی می باشد، به سبب این بیماری میزان محصول آن در طی ۱۲ سال از ۹۰۰۰۰ تن به ۵۰۰۰۰ تن در سال کاهش یافته است [Serdar, 2004; Aksoy and].

سوختگی درخت شاه بلوط در ایران اولین بار در سال ۲۰۰۶ توسط کاظم پور و همکاران در مناطق امامزاده ابراهیم در شفت و شفارود در استان گیلان گزارش شد. این آلودگی در سال‌های اخیر در بسیاری از درختان جنگل‌های شاه بلوط (*Castanea sativa*) استان گیلان گسترش یافته و اپیدمی آن در بسیاری از این مناطق خسارت های زیادی را به وجود آورده است.

درختان آلوده را می‌توان با وجود برگ‌های خشک باقیمانده در رأس شاخه‌های کوچک و فراوانی پاجوش‌های ایجاد شده در پای تنه درخت از فاصله دور نیز شناسایی کرد. این بیماری سبب ایجاد شانکر در تنه و شاخه درخت شده و نهال‌ها و پاجوش‌ها نیز لکه‌های قرمز-آجری منظم به همراه بافت‌هایی که کمی برجسته شده‌اند را نشان می‌دهند. در بیشتر درختان بالغ به جز شاخه هایی که کاملاً چوبی نشده اند، لکه‌های مشابهی در جهت طولی و یا با کمی فرو رفتگی وجود دارد. به مرور آلودگی شاخه ها و تنه را احاطه کرده و با رشد هایپرتروفی ترک‌های عمودی را ایجاد می‌کند که به راحتی جدا شده و در زیر آنان میسلیوم چرب بادبزنی شکل قابل مشاهده است. میوه ها کوچک و خشک می شوند. در اثر خسارت بالا خشکیدگی تمامی تاج درخت ، وجود شانکرهای مشخص و کاملاً برجسته روی تنه و شاخه ها، تشکیل پیکنیدیوم و پریتسیوم فراوان در محل شانکرها و نهایتاً نابودی مشاهده می‌گردد [Juhasova *et al.*, 2004].

۱-۲- عامل بیماری

قارچ عامل بیماری بلایت شاه بلوط اولین بار توسط موریل[1] در سال ۱۹۰۶ از روی درختان شاه بلوط در باغ گیاهشناسی نیویورک، گزارش شد. وی عامل بیماری را با نام *Diaprthe parasitica* توصیف کرد و در سال ۱۹۰۹ جنس *Endothia* برای معرفی این قارچ برگزیده شد [Locci, 2003]. چند سال بعد آندرسون و آندرسون[2] در سال ۱۹۱۲ گونه‌های جنسی *Endothia* را از هم جدا کردند. سرانجام به دنبال ارزیابی مجدد راسته Diaporthales توسط بار[3] در سال ۱۹۷۹، تاکسونومی جنس *Endothia* بر اساس شکل و ساختار استروما و شکل و تعداد دیواره آسکوسپور، تغییر کرد و به دو جنس *Endothia* و *Cryphonectria* تقسیم شد. بدین ترتیب این قارچ به *Cryphonectria* و گونه *E. parasitica*. به گونه (Murrill) *C. parasitica* Barr تغییر نام داد. بر اساس مطالعات فیلوژنتیکی روی اعضاء راسته Diaporthales، در حال حاضر موقعیت

1 - Murrill
2 – Anderson & Anderson
3 - Barr