

## بررسی علل مرگ نونهالهای سوزنی برگ در نهالستان لاکان

فیروزه حرفه دوست<sup>۱\*</sup>، تیمور رستمی شاهراجی<sup>۲</sup>، مهرداد قدس خواه<sup>۳</sup> و سیداکبر خداپرست<sup>۴</sup>

\* نویسنده مسئول، دانشجوی کارشناسی ارشد جنگل داری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان، پست الکترونیک: tsharaji@yahoo.co.uk

۲- دانشیار، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان.

۳- استادیار، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه گیلان.

۴- استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه گیلان.

تاریخ پذیرش: ۸۷/۵/۱۳

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۲/۱۴

### چکیده

بوته میری یا Damping off از بیماریهای شایع نهالستانهای جنگلی می باشد که همه ساله خسارتهای زیادی را به نهالستانها وارد می کند. از آن جا که کاهش این خسارتها مبتنی بر شناخت عوامل بیماریزا و سپس کنترل آنها می باشد، بازدیدهایی طی سالهای ۱۳۸۴ و ۱۳۸۵ از نهالستان لاکان به عمل آمد. نهالهای بیمار پس از جمع آوری و انتقال به آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفتند که عوامل بیماریزای بدست آمده بعد از انجام آزمایش بیماریزایی، قارچهای *Pythium sp.*, *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *Fusarium semitectum* Berk. & Rav., *F. oxysporum* Schlecht, داده شدند که در این میان گونه *Fusarium semitectum* Berk. & Rav. برای اولین بار از ایران به عنوان عامل مرگ نونهالهای سوزنی برگان معرفی می شود.

واژه های کلیدی: بوته میری، سوزنی برگ، نهالستان، *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Pythium*

### مقدمه

بیماری بوته میری (Damping off) به مرگ سریع نونهالهای شاداب اطلاق می گردد که علائم آن شامل ارغوانی تا قهوه ای شدن و باریک شدن قسمت آسیب دیده و سرانجام پلاسیدن و افتادن نهال است که به طور عمده بر اثر حمله برخی قارچهای خاکزی حاصل می گردد. مرگ نونهالهای درختان جنگلی دارای گسترش جهانی است و از مخربترین و شایعترین بیماریها در نهالستانها می باشد. این بیماری معمولاً ۴۵-۳۰ روز پس از رشد اتفاق می افتد و تلفات آن بین ۱۰ تا ۲۰ درصد است (Cram, 2003).

این بیماری اولین بار توسط Hartley et al. (1918) و Hartley (1921) مورد بررسی قرار گرفت. از آن تاریخ به بعد گزارشهای متعددی در مورد قارچهای عامل این بیماری از سراسر جهان ارائه شده است. چنان که Soni et al. (1991) برای اولین بار از هندوستان عامل مرگ نونهال را در نهالستانها، *Fusarium oxysporum* معرفی می کنند. همچنین براساس تحقیقات انجام شده توسط Annesi et al. (1992) از ایتالیا بر روی *Pinus nigra* عوامل مرگ نونهال، *Rhizoctonia sp.*, *Fusarium sp.* و *Pythium sp.* گزارش شد. (Zaspel & Suss 1992) نیز عوامل مرگ نونهالهای کاج را قارچهای *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Rhizoctonia solani* و

آوردند. کاویان‌پی (۱۳۷۷) در بررسی قارچهای همراه با پوسیدگی ریشه و مرگ گیاهچه در خزانه‌های درختان جنگلی خوزستان طی سالهای ۱۳۷۵ تا ۱۳۷۷ گونه‌هایی از قارچهای *Fusarium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Macrophomina* و *Rhizoctonia* را به‌عنوان عامل ایجاد بیماری گزارش کرد.

## مواد و روشها

### منطقه مورد مطالعه

نهالستان لاکان در استان گیلان واقع در سواحل جنوبی دریای خزر در منطقه‌ای با آب و هوای معتدله مرطوب قرار دارد. نوع خاک آن رسی سنگین و ارتفاع آن ۲۵ متر بالاتر از سطح دریاست. میزان بارندگی سالانه این نهالستان ۱۴۰۰ میلی‌متر و مساحت کل آن ۴۹/۵ هکتار می‌باشد، رطوبت سالیانه هوا در این نهالستان ۸۰٪ و درجه حرارت سالیانه بین ۱- تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد است و اسیدیته خاک آن ۶/۵-۵ می‌باشد (حرفه‌دوست، ۱۳۸۵).

## روش بررسی

### - نمونه‌برداری

جمع‌آوری نهالهای آلوده به‌طور عمده از نهالستان لاکان صورت گرفت. این نهالها در قسمتهای هوایی علائم توقف رشد و خم‌شدگی و پژمردگی و مرگ را نشان می‌دادند. نهالهای بیمار فاقد ریشه فرعی یا دارای ریشه‌های ضعیف و پوسیده بودند و یا ریشه اصلی آنها در محل طوقه (قسمت آلوده) یا در طول خود تغییر رنگ داده و تیره شده بودند (شکل ۱). نهالهای بیمار پس از جمع‌آوری درون کیسه‌های پلاستیکی قرار داده شده و برای بررسی عوامل بیماری‌زا به آزمایشگاه منتقل شدند. جمع‌آوری این نهالها از اواسط فروردین تا اوایل خردادماه صورت گرفت. گیاهان مورد بررسی

*Pythium ultimum* معرفی می‌کنند. Chin (1995) از کشور مالزی در تحقیقی مبنی بر بررسی مرگ نونهال در چند نهالستان جنگلی بر روی گونه‌هایی از جنسهای *Araucaria*, *Eucalyptus*, *Acacia* و *Pinus* گونه‌هایی از قارچهای *Pythium* و *Fusarium* را عامل بیماری روی بذر، نهال و گیاهان مسن‌تر معرفی کرده است. در پژوهشی که توسط Xue (2003) به‌منظور کنترل پاتوژنهای عامل پوسیدگی ریشه صورت گرفت، *Pythium* sp. یکی از عوامل ایجاد مرگ نونهال معرفی شد که از باکتری *Pseudomonas* در جهت کنترل بیولوژیکی آن استفاده می‌شود. در بررسی قارچهای مولد پوسیدگی ریشه در سوزنی‌برگان توسط Menkis et al. (2006) پاتوژنهایی همچون جنسهای *Pythium* و *Rhizoctonia* از مهمترین عوامل ایجاد بیماریهای مرگ نونهال و پوسیدگی ریشه در نهالهای سوزنی‌برگ معرفی شدند. در ایران نیز مرگ نونهال و پوسیدگی ریشه سوزنی‌برگان یکی از مهمترین موارد خسارت‌زا در خزانه‌ها و نهالستانهای جنگلی است. نخستین بار در سالهای ۱۳۴۴ و ۱۳۴۵ از سرچنگل‌داریهای نواحی مختلف سواحل دریای خزر خسارتهای یادشده بر روی کاج ایرانی گزارش شده است (Niemann et al., 1968). خسارتهای یادشده توسط *Rhizoctonia solani* ایجاد شده و راههایی برای مبارزه با آن پیشنهاد شده است. میرابوالفتحی و ارشاد (۱۳۷۵) طی بازدیدهایی که در سالهای ۱۳۶۹ تا ۱۳۷۱ از خزانه‌ها و نهالستانهای جنگلی شمال و مرکزی کشور انجام دادند، مهمترین عوامل مرگ نونهال سوزنی‌برگان را گونه‌هایی از جنس قارچهای *Fusarium* *Macrophomina* و *Phytophthora* معرفی کردند. Zakeri & Banhashemi (1993) نیز گونه‌هایی از جنس قارچهای *Fusarium*, *Pythium*, *Macrophomina* و *Phytophthora* را به‌عنوان عامل بیماری در فارس معرفی کردند. همچنین آنها در سال (۱۹۹۵) از بذرهای پوسیده سوزنی‌برگان، گونه‌هایی از جنس قارچهای *Rhizoctonia*, *Fusarium*,

### – اسپورانژیایی *Pythium*

برای تولید اسپورانژ از دو روش بذر شاهدانه و روش آب مقطر سترون استفاده شد. در روش اول، مقداری بذر شاهدانه را به مدت ۵ دقیقه در آب جوشانده و پس از خنک شدن تعداد ۱۵ تا ۲۰ عدد از آنها روی کشت جوان قارچ منتقل شده، پس از ۲۴ ساعت این بذر را درون یک تشتک پتری قرار داده و مقدار ۱۰ تا ۱۵ میلی لیتر آب مقطر سترون به آنها اضافه شد. بعد از ۳ تا ۴ روز اسپورانژها روی بذرهای غوطه‌ور تولید شدند (Schmitthenner, 1973). در روش دوم، برای این منظور ابتدا قارچ مورد نظر روی محیط کشت پایه کشت داده شد. پس از رشد کافی از حاشیه فعال کلنی چند دیسک (قرص) برداشته و داخل پتری سترون خالی طوری قرار داده شد که سطح بالایی قطعات به طرف بالا قرار گیرند، آنگاه حدود ۱۰ تا ۱۵ میلی لیتر آب مقطر سترون به پتری اضافه و سپس پتری‌ها زیر نور مداوم مهتابی (فلورسنت) به مدت ۳ تا ۵ روز قرار گرفتند. بعد از این مدت در حاشیه قطعات، اسپورانژها به فراوانی ظاهر شدند (ارشاد، ۱۳۷۱).

### – اثبات بیماری‌زایی

برای اثبات بیماری‌زایی از دو روش بذر گندم و کلنی قارچ استفاده شد. بدین منظور گلدانهایی حاوی خاک زراعی و شن پس از سترون کردن به نسبت مساوی تهیه گردید و آزمون بیماری‌زایی برای هر قارچ بر روی ۱۰ نهال سوزنی‌برگ ۲ ماهه انجام شد. گلدانهای مورد آزمایش در شرایط حرارتی ۲۵ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۸۰ تا ۹۰ درصد نگهداری شدند. روش بذر گندم در مورد قارچهای *Fusarium* و *Rhizoctonia* مورد استفاده قرار گرفت. در این روش ۵۰۰ سانتی‌متر مکعب دانه گندم همراه ۳۰۰ میلی لیتر آب درون ارلن طی دو روز متوالی و به مدت ۳۰ دقیقه با فشار

عبارتند از: کاج تدا (*Pinus teada* L.)، کاج دریایی (*Pinus pinaster* Ait.)، کاج بادامی (*Pinus pinea* L.)، سرو خمره‌ای (*Biota orientalis* (L.) Endl.)، سرو نقره‌ای (*Cupressus arizonica* Greene) و زربین (*Cupressus sempervirens* var. *horizontalis* L.).



شکل ۱- مرگ نونهالهای سوزنی‌برگ در نهالستان لاکان

### – جداسازی

به منظور جداسازی قارچهای عامل مرگ نونهالها، ابتدا طوقه و ریشه نونهالهای بیمار با آب روان شسته شد، سپس قسمتهایی از این اندامها در حدفاصل بخش سالم و آلوده به اندازه ۴ تا ۶ میلی‌متر جدا شدند و توسط مایع سفید کننده تجاری (هیپوکلرید سدیم) ۱۰٪ مورد ضدعفونی سطحی قرار گرفتند. سپس نمونه‌های ضدعفونی شده بر روی محیط کشتهای CMA، PDA، CMA و یا همراه با آنتی‌بیوتیک و قارچ‌کش (پیمارسین ۱۰ ppm، آمپی‌سیلین ۲۵۰ ppm و PCNB ۱۰۰ ppm) قرار داده شدند. برای جداسازی قارچ از خاک نیز از روش بذر شاهدانه استفاده شد. عوامل قارچی بدست آمده با توجه به نوع قارچ از طریق تک هیف کردن و یا تک اسپور کردن خالص‌سازی شدند.

محیط کشت بدون قارچ در محل ایجاد خراش استفاده گردید.

#### - تشخیص گونه

تشخیص گونه جنس *Rhizoctonia* براساس کلید شناسایی (Sneh et al. 1991) صورت گرفت. همچنین گونه‌های جنس *Fusarium* نیز براساس کلید شناسایی (Nelson et al. 1983) تعیین شدند.

برای شناسایی گونه رازوکتونیا تعیین تعداد هسته در هیف‌ها لازم است. از این‌رو رنگ‌آمیزی هسته با محلول رنگی Safranin O و به روش (Bandoni 1976) صورت گرفت. در این گونه تعداد هسته‌ها بین ۳ تا ۱۶ عدد متغیر بود.

#### نتایج

براساس نتایج بدست آمده تعداد ۶ قارچ *Rhizoctonia solani* Kuhn، *Pythium sp. solani* (Mart.)، *F. semitectum* Berk.، *F. oxysporum* Schlecht، Sacc. & Rav. و *Fusarium sp.* به‌عنوان عامل مرگ نونهالهای سوزنی‌برگ نهالستان لاکان شناخته شدند (جدول ۱).

یک اتمسفر و حرارت ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شد. سپس تعداد ۴ تا ۵ دیسک از کلنی فعال قارچ به آن اضافه گردید. پس از پوشش کامل بذرها توسط قارچ از آن به‌عنوان مایع تلقیح استفاده شد و در تیمار شاهد از دانه گندم سترون شده بدون تلقیح قارچ استفاده گردید (میرابوالفتحی و ارشاد، ۱۳۷۵).

روش استفاده از کلنی قارچ در آزمون بیماری‌زایی *Rhizoctonia* و *Pythium* استفاده شد.

برای اثبات بیماری‌زایی قارچ *Rhizoctonia* یک دیسک ۱۰ میلی‌متری از حاشیه کلنی بریده و به عمق یک سانتی‌متری و فاصله ۲ سانتی‌متری از هر هشت نهال قرار داده شد (Camporota & Perrin, 1998).

در مورد آزمون بیماری‌زایی *Pythium* از دو روش به‌شرح زیر استفاده گردید:

اول- یک دیسک از محیط کشت تازه قارچ در اطراف طوقه و ریشه نونهالها قرار داده شد و در تیمار شاهد از محیط کشت بدون قارچ استفاده گردید. دوم- با ایجاد خراش کوچکی در روی نهال مقدار کمی از کلنی فعال قارچ بر روی زخم قرار داده شد و در تیمار شاهد از

جدول ۱- جدایه‌های قارچی بدست آمده به تفکیک میزبان

میزبانها	تعداد جدایه	نام قارچ
کاج تدا، سرو نقره‌ای و زرین	۳	<i>Rhizoctonia solani</i> Kuhn
روی تمام گونه‌های سوزنی‌برگ مورد بررسی	۵۳	<i>Pythium</i> sp.
روی تمام گونه‌های سوزنی‌برگ مورد بررسی	۲۰	<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.
روی تمام گونه‌های سوزنی‌برگ مورد بررسی	۱۶	<i>F. oxysporum</i> Schlecht
کاج تدا و کاج دریایی	۷	<i>F. semitectum</i> Berk. & Rav.
کاج تدا	۱	<i>Fusarium</i> sp.

هستند. ریشه‌ها بدون دیواره عرضی، فاقد کلامیدسپور و معمولاً ظریف و یکنواخت می‌باشند. اسپورانژیوفورها نیز معمولاً به شکل ریشه‌های عادی و غیر منشعب می‌باشند. اسپورانژها انتهایی، نزدیک انتها، میانی یا جانبی بوده و به شکلهای کروی یا تقریباً کروی و در بعضی موارد تخم‌مرغی شکل بودند. اسپورانژها فاقد پاپیل و ریزان نبودند. اندازه اسپورانژها  $(20) \times 14 - (25) \times 19$  میکرومتر اندازه‌گیری شدند. اسپورها کروی یا نزدیک به کروی بودند و با ابعاد  $(44/18) \times 21 - (68/19) \times 18$  میکرومتر اندازه‌گیری شدند.

#### *Fusarium solani* (Mart.) Sacc.

این گونه از تمام سوزنی‌برگان نهالستان بدست آمد و ۲۰٪ قارچهای بدست آمده و ۴۵/۴۵٪ قارچهای فوزاریومی بدست آمده را شامل شده است. کلنی قارچ روی محیط PDA شیری تا کرم رنگ می‌باشد. قطر ۴ روزه کلنی  $3/21$  سانتی‌متر اندازه‌گیری شد، ریشه‌های هوایی غیر متراکم و میکروکنیدیوم‌ها بدون دیواره عرضی یا یک دیواره عرضی، به شکلهای بیضوی، تخم‌مرغی تا نسبتاً استوانه‌ای و به فراوانی در سرهای دروغین بر روی منوفیالیدهای باریک و بلند تشکیل شدند. ابعاد میکروکنیدیوم‌ها  $(3/8) \times 4 - (10/12) \times 3 - 8$  میکرومتر اندازه‌گیری شد. ماکروکنیدیوم‌ها نسبتاً استوانه‌ای کشیده و با کمی خمیدگی، با ابعاد  $(35/35) \times 5 - 40$  میکرومتر و با یک تا ۶ دیواره مشاهده شدند. کلامیدسپورها به شکل گرد تا تخم‌مرغی به صورت تنها و گاهی در زنجیره‌های ۲ تا ۳ تایی با ابعاد  $(7/86) \times 9 - 7 - (10/48) \times 12 - 7$  میکرومتر اندازه‌گیری شدند.

#### *Fusarium oxysporum* Schlecht

این گونه نیز از روی تمام نهالهای سوزنی‌برگ نهالستان لاکان بدست آمد و ۱۶٪ قارچهای بدست آمده و ۳۶/۳۶٪ گونه‌های فوزاریومی بدست آمده را تشکیل داده

در هر دو روش تلقیح نهالها (بذر گندم و کلنی قارچ) علائم بیماری ایجاد شده در گلخانه مشابه علائم بیماری در شرایط طبیعی (نهالستان) بود. پس از جداسازی قارچها از کلیه نهالهایی که آزمون بیماری‌زایی بر روی آنها انجام شده بود قارچهای *Rhizoctonia solani*، *F. oxysporum*، *Fuzarium solani*، *Pythium* sp.، *F. semitectum*، و *F. oxysporum* مجدداً شناسایی شدند. پس از گذشت دو هفته، بر روی نهالهای تلقیح شده از لحاظ شدت بیماری‌زایی هیچ‌گونه تفاوتی در علائم مشاهده نگردید.

#### *Rhizoctonia solani* Kuhn

نمونه‌های بررسی شده از روی ریشه کاج تدا، سرو نقره‌ای و زربین بدست آمدند و ۳٪ قارچهای بدست آمده را شامل می‌شدند. برای خالص‌سازی کلنی این قارچ از روش تک هیف کردن استفاده شد.

کلنی این قارچ ابتدا سفید رنگ بوده ولی بعد به رنگ کرم و سرانجام قهوه‌ای در می‌آید. اسکلرتهای نیز ابتدا سفید و به مرور به قهوه‌ای تیره تا سیاه تغییر رنگ می‌دهند. اسکلرتهای به شکلهای گرد، نیمه‌گرد و بی‌شکل و با میانگین قطر  $5/562$  میکرومتر تا  $2125$  میکرومتر با سطوحی صاف و گاهی ناصاف به صورت انفرادی و گاهی تعدادی در کنار هم به صورت مجتمع دیده می‌شوند. ریشه‌ها دارای انشعابهای تقریباً عمود برهم با فرورفتگی در محل انشعاب بوده و در فاصله کمی از محل انشعاب دارای دیواره عرضی می‌باشند. ابعاد هیف  $(42/45) \times 77 - 25 \times (9/8) \times 12 - 7/5$  میکرومتر اندازه‌گیری شد.

#### *Pythium* sp.

پیتیم ۵۳٪ ایزوله‌های بدست آمده را شامل شد و از روی تمام نهالهای سوزنی‌برگ موجود در نهالستان بدست آمد. در این قارچ رنگ کلنی بر روی محیط کشت PDA سفید بوده و تشکیل ریشه‌های هوایی را می‌دهد و در محیط CMA تقریباً بی‌رنگ و ریشه‌ها بیشتر داخل محیط

**Fusarium sp.**

نمونه بررسی شده از روی کاج تدا بدست آمد و یک درصد قارچهای بدست آمده و ۲/۲۷ درصد قارچهای فوزاریوم بدست آمده را شامل شد. کلنی قارچ، روی PDA تشکیل میسلیومهای انبوه و متراکم را می‌دهد؛ ریشه‌های هوایی صورتی پررنگ تا سفید است و از زیر پتری رنگ کلونی ارغوانی دیده می‌شود. قطر ۴ روزه کلنی ۳/۲ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. با وجود استفاده از محیط کشتیهای CLA و PSA اسپورزایی به اندازه‌ای صورت نگرفت که برای شناسایی گونه کافی باشد.

**بحث**

مرگ نونهالها از بیماریهای مهم و شایع نهالستانهای جنگلی است و معمولاً تلفات این بیماری بین ۱۰ تا ۲۰ درصد است. اصلی‌ترین قارچهای عامل مرگ نونهالها عبارتند از: *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Fusarium* و *Phytophthora* (Cram, 2003). همان‌طورکه مشاهده می‌شود قارچهای بدست آمده در این بررسی جزء اصلی‌ترین قارچهای عامل مرگ نونهالها می‌باشند.

شدت این بیماری تا حد زیادی به عواملی مانند رطوبت خاک، آب و هوا، حساسیت میزبان و دما بستگی دارد. چنان‌که مرگ نونهالها توسط رایزوکتونیا با افزایش دمای خاک و افزایش خشکی رابطه مستقیم دارد. مرگ نونهالها با عامل *Rhizoctonia solani* از سراسر دنیا گزارش شده است. این قارچ برای اولین بار بر روی نهالهای سوزنی‌برگ در سال ۱۹۶۷ و ۱۹۶۹ گزارش شد (Parmeter et al., 1967, 1969)، پیتيوم نیز مانند رایزوکتونیا دارای گسترش جهانی است. مرگ نونهالها با عامل پیتيوم به میزان زیادی با افزایش رطوبت و اسیدیته خاک بیشتر می‌شود (Wright, 1957, Roth & Riker, 1943a & 1943b). به‌طورکلی زمانی که خاک سرد و خیس است فعالیت این قارچ نیز بیشتر می‌باشد، براساس مشاهده‌های انجام شده در این تحقیق نیز فعالیت این

است. کلنی این قارچ روی محیط PDA دارای میسلیومهای پنبه‌ای و پراکنده و گاهی متراکم و با رنگهای بنفش تا صورتی مشاهده شد. قطر ۴ روزه کلنی ۳/۵ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. در این گونه میکروکنیدیومها به فراوانی بر روی فیالیدهای کوتاه و منفرد تشکیل سرهای دروغین را می‌دهند. میکروکنیدیومها معمولاً تک سلولی، تخم‌مرغی تا بیضوی و یا قلوهای شکل هستند. ابعاد میکروکنیدیومها  $۲-۳(۲/۳۶) \times ۱۰(۸/۲۸)-۶$  میکرومتر اندازه‌گیری شد. میکروکنیدیومها کمی کشیده، داسی و قایقی شکل‌اند و روی فیالیدهای منفرد تولید می‌شوند. میکروکنیدیومها با دیواره نازک و ظریف و یک سلول انتهایی باریک و سلول پایه مشخص، دارای ۳ تا ۷ دیواره و با ابعاد  $۳۲/۵-۴۵(۳۸/۲) \times ۵$  میکرومتر مشاهده شدند. کلامیدسپورها نیز به‌صورت انفرادی یا دوتایی و به شکلهای کروی تا بیضی شکل و با ابعاد  $۱۲/۵(۸/۶)-۷/۵(۱۰/۷) \times ۷/۵$  میکرومتر مشاهده شدند.

**Fusarium semitectum Berk. & Rav.**

نمونه‌های بررسی شده این قارچ از روی ریشه کاج تدا و کاج دریایی بدست آمدند و ۷٪ قارچهای بدست آمده و ۱۵/۹٪ قارچهای فوزاریومی بدست آمده را شامل شده است. رنگ کلنی این قارچ روی محیط کشت PDA صورتی بوده و دارای میسلیومهای هوایی متراکم می‌باشد. قطر ۴ روزه کلنی ۳/۱ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. این قارچ فاقد میکروکنیدی است، اما میکروکنیدیومهای دوکی شکل در اندازه‌های متنوع بر روی پلی‌فیالیدها تولید می‌کند، این میکروکنیدیومها در ابعاد  $۱۵-۴۷/۵(۳۸) \times ۴-۵(۴/۷)$  میکرومتر با تعداد ۳ تا ۸ دیواره مشاهده شدند. کلامیدسپورها با تراکم کم، معمولاً به‌صورت زنجیر دوتایی و گاه به تنهایی، با حاشیه صاف و تقریباً گرد و با قطر متوسط ۶ میکرومتر اندازه‌گیری شدند.

- حرفه دوست، ف.، ۱۳۸۵. بررسی علل بوته میری در نهالهای سوزنی برگ نهالستان لاکان. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه گیلان، ۶۹ صفحه.

- کاویان پی، ع.، ۱۳۷۷. جداسازی و تشخیص قارچهای مولد پوسیدگی ریشه و مرگ گیاهچه و نهال خزانه های درختان جنگلی در خوزستان. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز. ۹۲ صفحه.

- میرابوالفتحی، م. و ارشاد، ج.، ۱۳۷۵. بررسی مرگ گیاهچه سوزنی برگان در خزانه ها و نهالستانهای شمالی و مرکزی کشور. مجله بیماریهای گیاهی، شماره های ۱ و ۲ جلد ۳۲: ۲۶-۱۶.

- Annesi, T., Giovinazzo, M., Motta, E., Perrone, V., 1992. Seed dressing in a forest nursery: trials with *Pinus nigra*. Italia-Forestale-e-Montana, 47: 5, 268-279.
- Bandoni, R.J., 1979. Safranin as a rapid nuclear stain for fungi. Mycologia 71:873-40.
- Burgess, L.W., 1981. General Ecology. Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy. eds.: Nelson, P.E., Toussoun, T.A. and Cook, R.J. The Pennsylvania State University Press, University Park. 225-235.
- Camporota, P. and Perrin, R., 1998. Characterization of *Rhizoctonia* species involved in tree seedling damping-off in French forest nurseries. Applied Soil Ecology, 65-71.
- Chin, F.K., 1995. Damping-off in some forest nurseries in Sarawak. Leaflet -Forest-Pathology-Information-Kuching. No. 2-95, 7 p.
- Cram, M.M., 2003. Damping-Off. Tree Planters' Notes, 50(1): 9-13.
- Hartley, C., 1921. Damping-off in forest nurseries. US Dept Agric Bull, 934:1-99.
- Hartley, C., Marrill, T.C. and Rhoads. A.S., 1918. Seedling disease of conifer Agricultural research. [V.s.] 15:521-558.
- Lukezic, F.L. and Kaiser, W.J., 1966. Aero- biology of *Fusarium roseum* 'Gibbosum' associated with crown rot of boxed bananas. Phtopathology, 56: 545-548.
- Menkis, A., Vasiliaskas, R., Taylor, A.F.S., Stenström, E., Stenlid, J. and Finlay, R., 2006. Fungi in decayed roots of conifer seedlings in forest nurseries, afforested clear-cuts and abandoned farmland. Plant Pathology, 55: 117-129.
- Nelson, P.E., Toussoun, T.A. and Marasas, W.F.O., 1983. *Fusarium* species: An Illustrated Manual for identification. Pennsylvania State Univ. Press, 193 p.
- Niemann, E., Scharif, G. and Mostowfipoor, P., 1968. Bekämpfungversuche gegen *Rhizoctonia*- Befall

قارچ در چنین محیطی افزایش می یابد، چنان که بیشترین درصد جدایه های بدست آمده مربوط به پیتیوم است. همچنین خاک مرطوب محیط مناسبی برای فعالیت قارچهای فوزاریومی است. *Fusarium solani* بیشترین درصد فراوانی را در بین قارچهای فوزاریومی بدست آمده در این بررسی دارا بود. گونه اشاره شده از جمله قارچهای بیماری زایی است که از نقاط مختلف دنیا به عنوان یکی از عوامل مرگ نونهالها معرفی شده و معمولاً همراه آلودگی قارچهای دیگر مانند *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Phytophthora* و یا با گونه های دیگری از جنس فوزاریوم همچون *F. oxysporum* دیده می شود (Nelson et al., 1983). *F. oxysporum* نیز مانند *F. solani* دارای گسترش جهانیست. صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک این گونه در محیط کشت با تغییرات شدید همراه می باشد (Burgess, 1981) و احتمالاً به همین علت است که این گونه قادر است نواحی اکولوژیکی وسیعی را در بسیاری از مناطق جغرافیایی اشغال کند. این گونه دارای فرم های اختصاصی و جمعیت های مختلفی است و قادر است در بسیاری از گیاهان ایجاد بیماری کند. *F. semitectum* گونه ایست که در مناطق استوایی و نیمه استوایی و گاهی در مناطق معتدله دیده می شود و یکی از عوامل مهم پوسیدگی محصولات و میوه های ویژه مناطق استوایی در انبارها و همچنین عامل پوسیدگی موز و سیبزمینی نیز می باشد (Lukezic & Kaiser, 1966). قابل ذکر است که این گونه برای اولین بار در ایران به عنوان عامل مرگ نونهالها سوزنی برگان گزارش می شود.

### منابع مورد استفاده

- ارشاد، ج.، ۱۳۷۱. گونه های فیتوفتورا در ایران (جداسازی-خالص سازی- شناسایی). انتشارات سازمان تحقیقات کشاورزی، ۲۱۷ صفحه.

- Sneh, B., Burpee, L.L. and Ogoshi, A., 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. APS Press, 133 p.
- Soni, K.K., Kalyani, K.B. and Rishi, R.R., 1991. Two new diseases of *Acacia holosericea* from India. My forest. 27(1): 62-64.
- Wright, E., 1957. Influence of temperature and moisture on damping-off of American and Siberian elm, black locust and desert willow. Phytopathology, 47:658-662.
- Xue, A.G., 2003. Biological control of pathogens causing root rot complex in field pea using *Clonostachys rosea* strain ACM941. Phytopathology, 93: 329-335.
- Zakeri, A. and Banihashemi, Z., 1993. Fungi associated with Pine and *Cupressus* root rot in Fars province. Proc. 11<sup>th</sup> Plant protect. cong. Rasht, Iran. 248 p.
- Zaspel, I. and Suss, R., 1992. Biological control of damping-off in *Pinus sylvestris* L. with bacterial antagonists. Bulletin-OILB-SROP. 15 (1): 118-120.
- an *Pinus*- Saemlingen. Entomologie phytopathologie Appliquees, 27: 43-52.
- Parmeter, J.R., Whitney, H.S. and Platt, W.D., 1967. Affinities of some *Rhizoctonia* species that resemble mycelium of *Thanatephorus cucumeris*. Phytopath., 57: 218-223.
- Parmeter, J.R., Sherwood, R.T. and Platt, W.D., 1969. Anastomosis grouping among isolates of *Thanatephorus cucumeris*. Phytopath., 59: 1270-1278.
- Roth, L.F. and Riker A.J., 1943a. Influence of temperature, moisture, and soil reaction on the damping-off of red pine seedlings by *Pythium* and *Rhizoctonia*. Journal of Agricultural Research, 67: 273-293.
- Roth, L.F. and Riker A.J., 1943b. Seasonal development in the nursery of damping-off of red pine seedlings caused by *Pythium* and *Rhizoctonia*. Journal of Agricultural Research, 67: 417-431.
- Schmitthenner, A.F., 1973. Isolation and identification methods for *Phytophthora* and *Pythium*. pp. 94-110. In Proc. Woody Ornamental Dis. Workshop. Lst, 24-25 January 1973, Univ. Mo, Columbia, 128 p.



## Investigation on agent conifer damping off in the forest nursery of Lakan

F. Herfehdoost<sup>1\*</sup>, T. Rostami Shahraji<sup>2</sup>, M. Qhodskhah<sup>3</sup> and A. Khodaparast<sup>4</sup>

1\* - Corresponding author, M.Sc., University of Guilan. E-mail: tsharaji@yahoo.co.uk

2- Associate Prof., faculty of natural resources, University of Guilan.

3- Assistant Prof., faculty of natural resources, University of Guilan.

4- Assistant Prof., faculty of agriculture, University of Guilan.

### Abstract

Damping off is one of the prevalent diseases in forest nurseries, which makes sever damages to conifer seedlings every year. Damping off caused to changes in color and curvature of seedling into pteal and become to seedling mortality. This study was executed in order to identify the causes of damping off in conifer seedlings in the nurseries of Lakan in Guilan province. For this purpose, the infected seedlings were collected and transferred to the laboratory for further research. After isolation and purifying the morphologic characteristics, the macroscopic and microscopic characteristics of the pathogenic agents were studied. The detected isolated pathogens were: *Rhizoctonia solani* Kuhn, *Pythium* sp., *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., *F. oxysporum* Schlecht, *F. semitectum* Berk. & Rav. and *Fusarium* sp. The all symptoms of pathogens distinguished were similar to the primary contaminated seedling. The obtained results showed that the abundant of *Pythium* sp. was higher than the other patogens in Lakan nursery. We can mention that, this is the first report of the presence of *Fusarium semitectum* var. *majus* at the pine trees in the Guilan province in Iran.

**Key words:** damping off, conifer, forest nursery, *Pythium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*.