دانش گیاه‌پزشکی ایران
دوره ۴۵، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۳۹۳ (ص۱۲۰-۱۱۱)

بررسی بیماری پژمردگی شاخهٔ درخت و نهال زیتون و کاهش جمعیت عامل بیماری با استفاده از روش آفتاب‌دهی خاک(Soil solarization) در استان‌های زنجان و گلستان

حسین صارمی[1]* و علی عمارلو[2]
۱. استاد، گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی کرج، دانشگاه تهران
۲. محقق، پژوهشکدهٔ فناوری‌های نوین زیستی دانشگاه زنجان
(تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۱۱ - تاریخ تصویب: ۹۳/۶/۱۷)

چکیده

خشکیدگی شاخه در درختان، نهال‌ها و قلمه‌های زیتون در ایران و بسیاری از مناطق دنیا یکی از مهم‌ترین بیماری‌های زیتون محسوب می‌شود. این بیماری در بسیاری از مناطق زیتون‌کاری کشور از جمله زنجان (طارم)، گرگان و مشهد خسارات زیادی وارد می‌آورد و شیوع آن رو به گسترش است. به‌منظور مطالعهٔ علل بیماری و کنترل آن، باغ‌ها و نهال‌های زیتون در دو استان زنجان و گلستان در طی سال‌های ۱۳۸۸،۱۳۸۹ و۱۳۹۰ بررسی شد. نمونه‌هایی از شاخه‌های خشک‌شدهٔ درختان زیتون (آلوده)، نهال‌های گلدانی با یک شاخهٔ خشک و نیز خاک و ریشهٔ گیاهان، جمع‌آوری شد و پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم نیم درصد، روی محیط کشت‌های عمومی PDA و SDA انتقال یافت. خاک مزارع و باغ‌های آلوده نیز با تهیهٔ محلول خاک در محیط آب آگار، نیم گرم در یک لیتر، بررسی و سپس قارچ عامل بیماری جدا شد. به استناد مشخصات ظاهری قارچ، عامل بیماری *Verticillium dahliae* تشخیص داده شد. برای کنترل بیماری از روش آفتاب‌دهی (Soil Solarization) در مزرعه و بهره‌وری از آن در گلخانه به‌همراه کشت قلمهٔ تهیه‌شده از درختان به‌نسبت مقاوم استفاده شد. اثر دو عامل، نوع بستر کشت (Solarized soil و Non-solarized soil) و منشأ قلمه یا کولتیوار (حساس به ورتیسیلیوم و نسبتاً مقاوم) با استفاده از آزمایش‌های فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام گرفت. برای این منظور، قلمه‌های نیمه‌خشبی مناسب هم‌اندازه از درختان آلوده و نیز نسبتاً مقاوم زیتون تهیه شد. قلمه‌های زیتون در شرایط گلخانهٔ میست، ریشه‌دار شده و سپس در گلدان‌های حاوی دو نوع بستر کشت شد. کاربرد آفتاب‌دهی به‌مدت دو تا شش هفته، جمعیت قارچ عامل بیماری را به‌شدت کاهش داد. متوسط جمعیت اندام‌های قارچ بعد از آفتاب‌دهی در خاک چهار ناحیهٔ مطالعه‌شده در هر دو استان تا ۳۰ درصد و بعد از شش هفته تا ۷۵ درصد کاهش یافت. بدین ترتیب استفاده از خاک آفتاب‌دهی‌شده (Solarized soil) و همچنین تهیهٔ قلمه از پایه‌های به‌نسبت مقاوم در کاهش بیماری مذکور روی قلمه‌های تولیدی بسیار مؤثر است.

واژه‌های کلیدی: آفتاب‌دهی، خشکیدگی شاخه، زیتون، *Verticillium dahliae* .

مقدمه

زیتون (*Oleaeuropaea* L.) یکی از درختان پراهمیت و قدیمی کشور است که عمدتاً در حومهٔ طارم (استان زنجان) به‌فراوانی وجود دارد. میوه و روغن زیتون ارزش غذایی بسیار زیادی دارد و یکی از محصولات پرمصرف است که اهمیت اقتصادی زیادی دارد. تولید زیتون در منطقهٔ مدیترانه، ۹۵ درصد تولید کل جهان است و در حدود ۸۳۰ میلیون اصله درخت در این مناطق کشت شده است. اسپانیا و ایتالیا ۴۵ درصد تولید زیتون را به خود اختصاص داده‌اند و دیگر کشورهای تولیدکنندهٔ زیتون به‌ترتیب یونان، ترکیه، تونس، پرتغال، مراکش، سوریه، الجزایر، آرژانتین، پاکستان و ایران هستند

* تلفن: ۰۲۶۳۲۲۲۱۴۸۲
E-mail: hsn.saremi@gmail.com

(Azeri, 1993; Tabatabaei,1995; Dervis *et al*., 2007; Sanei *et al*., 2011). درخت زیتون در سراسر دنیا کشت می‌شود، ولی کشورهای اروپایی بزرگ‌ترین تولیدکنندگان زیتون در جهان‌اند. با اینکه زیتون در ایران قدمت زیادی دارد، سطح زیرکشت درختان بارور و مقدار تولید آن زیاد نیست؛ برای مثال در سال ۱۳۹۱، به‌مقدار ۱۰۳هزار تن میوه از۵۰هزار هکتار سطح بارور برداشت شده است (www.tors.ir)، درصورتی‌که اسپانیا با تولید ۲۳ درصد زیتون‌های کنسروی در جهان، نخستین تولیدکننده است و تولید بقیهٔ کشورها شامل ترکیه ۱۲ درصد، آمریکا ۱۲ درصد، مراکش ۵/۸ درصد، سوریه ۵/۷ درصد و یونان ۳/۷ درصد است (Tabatabaei, 1995). یک بیماری مهم به‌نام پژمردگی شاخه یا پژمردگی ورتیسیلیومی در مناطق مختلف زیتون‌کاری دنیا وجود دارد و خسارت زیادی به این محصول وارد می‌کند (Azeri,1993; Colella, *et al*., 2008; Jiménez-Díaz, *et al*., 2012). این بیماری در کشور ما به‌علت توسعهٔ زیتون‌کاری و تأسیس باغ‌های جدید در مناطق مختلف کشور رو به گسترش است. بررسی‌های زیادی درخصوص میزان پراکنش این بیماری و چگونگی کنترل آن در کشور انجام نگرفته است با این حال وجود بیماری در مناطق شمالی و مرکزی گزارش شده است (Sanei, *et al*., 2011). بررسی نمونه‌های ارسالی توسط مراکز مختلف تولید نهال زیتون، به‌ویژه شرکت نصب نیرو، تولیدکنندهٔ هزاران نهال زیتون در سال برای مناطق مختلف به‌خصوص مشهد و گرگان، وجود این بیماری در مناطق مختلف را آشکار می‌کند (Saremi et al., 2010a). مرکز تحقیقات سازمان کشاورزی استان زنجان نیز براساس مراجعات باغکاران و مشاهدات مختلف، شیوع گستردهٔ این بیماری را در طارم گزارش کرده است (Zeinalou, & Nosrati, 1999). گاهی عامل بیماری در نهال‌های جوان موجب مرگ سریع می‌شوند، به‌طوری‌که تمام نهال ناگهان خشک می‌شود. خسارت بیماری در کشورهای آسیایی مثل سوریه، ترکیه و اروپایی از جمله اسپانیا، یونان، فرانسه و روسیه و نیز آمریکا و استرالیا مشاهده شده است (Caballero, *et. al*., 1981; Rodriguez *et al*., 1993; Barbara, 2001). با توجه به خشکیدگی شاخه‌ها و حتی تمامی درختان زیتون و زیان‌های سنگین ناشی از بیماری، در مناطق مختلف دنیا، تلاش زیادی برای کنترل عامل بیماری انجام گرفته است. در سال‌های اخیر با استفاده از شیوهٔ کنترل بیولوژیک، استفاده از قارچ میکوریزا، روش‌های زراعی یا افزایش مواد آلی سعی می‌کنند جمعیت عامل بیماری را کاهش دهند (Karajeh & Al-Raddad 1999; Antoniou, *et al*., 2008). نظر به تدوین و تصویب طرح ملی شناسایی، جمع‌آوری و ارزیابی ارقام مقاوم زیتون، ژنوتیپ‌های مناسب و مقاوم این گیاه در استان‌های مختلف کشور مانند گلستان، گیلان، زنجان، قزوین و ... بررسی می‌شود. در این زمینه بیش از۱۲۰ ژنوتیپ بومی جمع‌آوری و پس از تکثیر در بانک ژن ایستگاه تحقیقات زیتون طارم کاشته شد و تحت ارزیابی است (www.tors.ir). روش آفتاب‌دهی در بسیاری از مناطق مختلف جهان برای کاهش جمعیت قارچ‌های خاکزاد استفاده می‌شود و نتایج مناسبی نیز به‌همراه داشته است (Annesi & Motta, 1994; Lopez-Herrera *et al*.,1997)(Minuto *et al*., 2006; Saremi & Saremi, 2013). برای مثال خاک باغ‌های تازه‌تأسیس زیتون در جنوب اسپانیا با استفاده از روش آفتاب‌دهی ضدعفونی شد که کاهش ۹۰ – ۸۰ درصدی عوامل قارچی و سایر پاتوژن‌ها را درپی داشته است (Lopez – Escudero & Blanco-Lopez 1997). در عین حال کاهش جمعیت قارچ عامل در اثر استفاده از حرارت خورشید در باغ‌های جدید زیتون مورد مطالعهٔ محققان مختلف بوده است (Tjmos, 1991; Saremi *et al*., 2010). نظر به محدودیت‌های مختلف در کنترل شیمیایی عامل بیماری و از طرفی دوام زیاد آن در خاک، استفاده از یک روش غیرشیمیایی ضرورت خواهد داشت. در این تحقیق، علاوه بر ارزیابی آفتاب‌دهی در کاهش جمعیت عامل بیماری در خزانه‌ها و باغ‌های آالوده با استفاده از خاک آفتاب‌دهی‌شده (Solarized soil) ، کشت قلمهٔ تهیه‌شده از درختان به‌نسبت مقاوم در گلخانه بررسی شد.

مواد و روش‌ها

الف) جداسازی و شناسایی عامل بیماری از گیاه

باغ‌های زیتون مناطق مختلف شهرستان طارم، و گلخانه‌های بستر تولید زیتون در نواحی گرگان و مشهد در دفعات مختلف بازدید و نمونه‌برداری شد. درختانی که

عموماً یک شاخهٔ آنها پژمرده یا خشک شده بودند شناسایی و شاخهٔ خشک‌شدهٔ آنها همراه ریشهٔ گیاه و خاک اطراف ریشه جمع‌آوری و به آزمایشگاه بیماری‌شناسی گیاهی منتقل شدند. گلدان‌های حاوی نهال زیتون که یک شاخهٔ آن یا همهٔ نشای خشک شده بود نیز از مناطق مختلف کشور خصوصاً زنجان و گرگان به‌صورت مکرر جمع‌آوری به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌های جمع‌آوری‌شده و خاک اطراف ریشه برای جداسازی عامل بیماری بررسی شد. قسمت‌های مختلف نمونه‌های آلوده شامل شاخه، طوقه و ریشه، پس از شست‌وشو و ضدعفونی سطحی با محلول هیپوکلریت سدیم نیم درصد به درون تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت سیب‌زمینی، دکستروز آگار (PDA) و سابورود، دکستروز آگار (SDA) منتقل و در دمای ۲۰ و ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد همراه با نور متناوب نگهداری شد. پرگنهٔ قارچ پس از یک هفته روی محیط کشت ظاهر شد و متعاقباً خالص‌سازی آن صورت گرفت و با بررسی‌های میکروسکوپی و استفاده از منابع قارچ عامل بیماری شناسایی شد.

ب) جداسازی عامل بیماری از خاک

وضعیت عامل بیماری در خاک اطراف ریشهٔ درختان و نهال‌های دارای علائم آلودگی نیز بررسی شد. برای این منظور با توجه به خاک‌زاد بودن عامل بیماری از محلول آب آگار (WA) استفاده شد که با افزایش نیم گرم آگار در یک لیتر آب تهیه شد. ۱۰۰ میلی‌لیتر از این محلول در یک بطری شیشه‌ای مخصوص و قابل سترون شدن ریخته شد و پس از سترون کردن در اتوکلاو (۱۲۰ درجهٔ سانتی‌گراد و ۱/۵ اتمسفر فشار) و خنک شدن مقدار محلول، یک گرم خاک تحت مطالعه به آن افزوده شد. با این روش زادمایهٔ قارچ عامل بیماری به‌ویژه کنیدیوم بیمارگر موجود در خاک به‌صورت سوسپانسیون درون بطری حاوی آب آگار به‌صورت یکنواخت معلق شد. سپس یک میلی‌لیتر از قسمت مرکزی سوسپانسیون محلول خاک با پی‌پت برداشته و در سطح تشتک پتری حاوی محیط کشت (SDA) مورد مصرف به‌صورت یکنواخت پخش شد. به‌منظور جلوگیری از رشد و توسعهٔ باکتری‌ها در تشتک پتری، خاک مورد مصرف قبل از تهیهٔ سوسپانسیون کاملاً خشک می‌شد. با توجه به خاک‌زاد بودن قارچ عامل بیماری و فراوانی زادمایهٔ آنها در خاک اطراف ریشهٔ نهال‌ها و درختان آلوده، پس از کشت خاک، تعدادی پرگنه روی محیط‌های کشت رشد کردند. تشتک‌های حاوی نگهداری پرگنه قارچ در اتاق کشت و سپس پرگنه‌ها خالص‌سازی شدند و مطالعات میکروسکوپی و سایر بررسی‌های تاکسونومیکی به‌عمل آمد.

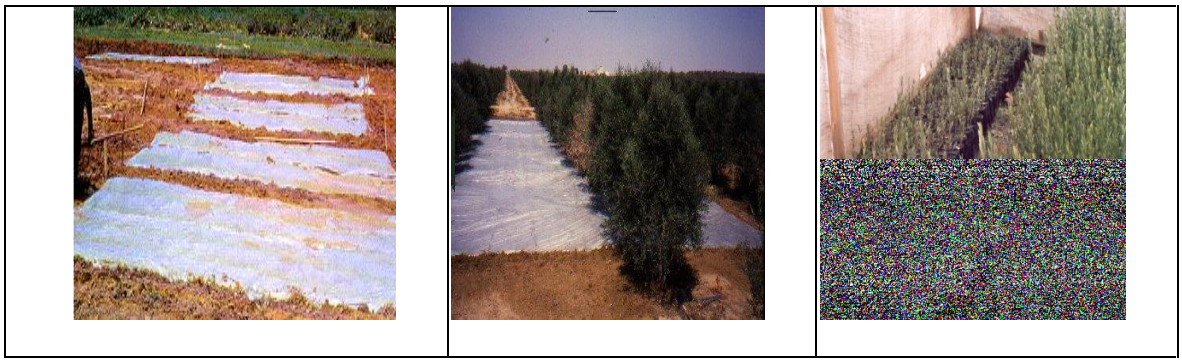
ج) اعمال روش آفتاب‌دهی

کارایی روش آفتاب‌دهی در کاهش جمعیت پاتوژن‌ها در منطقهٔ طارم و گرگان که از مناطق اصلی زیتون‌کاری کشورند ارزیابی شد. برای این منظور خاک منطقهٔ زیتون‌کاری در ماه‌های تابستان (اواسط تیر تا اواخر مرداد) در چهار ناحیه بررسی شد که طبیعتاً ابتدا به‌صورت عمیق شخم زده شد و سپس تسطیح و کاملاً آبیاری شد. آنگاه سطح خاک با پوشش پلاستیکی با ضخامت ۵۰ -۲۵ میکرومتر به عرض ۲متر و طول متناسب با باغ مورد نظر پوشانده شد (شکل ۱). لبه‌های پلاستیک در زیر خاک قرار گرفت تا گرمای ایجادشده از زیر پلاستیک خارج نشود و پوشش پلاستیکی به‌مدت ۴۲روز روی اراضی تحت مطالعه باقی ماند. تأثیر آفتاب‌دهی در افزایش دمای خاک با دماسنج به‌صورت متعدد در زمان‌های مختلف بررسی شد. در این زمینه دمای محیط و دمای خاک زیر پلاستیک قبل از پوشش و همچنین دو هفته و شش هفته بعد از پوشش در ساعت ۱۴ تا ۱۵ عصر در عمق ۵ سانتی‌متری اندازه‌گیری شد. برای بررسی چگونگی تأثیر دمای زیر پلاستیک در تراکم قارچ عامل بیماری، همزمان با ارزیابی حد افزایش دما، از خاک زیر پلاستیک تا عمق ۱۰ سانتی‌متر نمونه‌برداری شد. میزان جمعیت زادمایه در نمونه خاک‌های جمع‌آوری‌شده پس از هم زدن، خشک شدن و الک کردن با انتقال یک گرم از هر نمونه خاک به بطری شیشه‌ای حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول آب آگار سترون‌شده در آزمایشگاه ارزیابی شد. سپس ضمن به‌هم زدن محلول و پراکنش مناسب نمونهٔ خاک، یک میلی‌لیتر از مرکز سوسپانسیون با پی‌پت برداشته و درکنار ظرف پتری حاوی محیط کشت PPA ریخته

شد. محلول در سطح محیط کشت با دقت و روش مناسب پخش شد تا امکان رشد کلنی به‌صورت پراکنده و مناسب فراهم شود.

د) استفاده از خاک آفتاب‌دهی‌شده همراه با ارقام مقاوم

به‌منظور بررسی اثر دو عامل، نوع بستر کشت (Solarized soil و Solarized soilNon) و منشأ قلمه یا کولتیوار (حساس به ورتیسیلیوم و نسبتاً مقاوم) تحقیق حاضر با استفاده از آزمایش‌های فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلدانی اجرا شد. قلمه‌های زیتون از دو منشأ یادشده در شرایط گلخانهٔ میست، ریشه‌دار شد و سپس در گلدان‌های حاوی دو نوع بستر کشت یادشده کشت شد (شکل ۱c).



a b c

شکل ۱. استفاده از پوشش پلاستیکی برای اجرای روش آفتاب‌دهی در مزارع و باغ‌های آلودهٔ طارم **(a)** و گرگان **(b)** در تابستان (اواسط تیر تا اواخر مرداد) به‌مدت ۴۲ روز (شش هفته). کشت قلمه‌های نسبتاً مقاوم در خاک آفتاب‌دهی‌شده (سمت راست**c**) گلدان‌های شاهد با خاک و قلمه‌های معمولی (سمت چپc**)**

نتایج

۱. علائم بیماری خشکیدگی شاخه در نهال‌های زیتون

بارزترین علائم بیماری، پژمردگی اغلب یک شاخه و سالم بودن بقیهٔ شاخه‌های نهال بود که این علائم در نشاهای تحت بررسی به‌وفور ملاحظه شد (شکل ۲a). گاهی عامل بیماری موجب انسداد آوندها و ممانعت از انتقال آب و املاح می‌شود که پژمردگی در شاخه‌ها را به‌وجود می‌آورد. تعداد زیادی از نهال‌های اولیهٔ زیتون در گلخانه‌های گرگان و مشهد با پژمردگی کامل مواجه بودند، درحالی‌که وضعیت عمومی در کشت و نگهداری در گلخانه‌ها یکسان بود (شکل۲b). قارچ عامل بیماری از قسمت‌های مختلف شاخهٔ خشکیده، حتی برگ‌ها، ساقهٔ اصلی، ریشه و خاک اطراف ریشه بعد از کشت در محیط‌های مورد نظر جداسازی شد.

a b

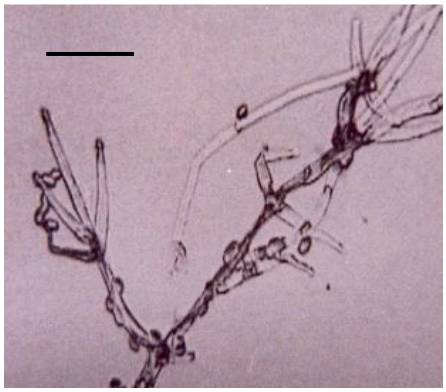
شکل ۲. علائم بیماری در نهال‌های زیتون، پژمردگی کامل یک نهال در مقایسه با نهال سالم (a) و خشک شدن فقط یک شاخه و سالم بودن شاخهٔ دیگر (b) توسط قارچ Verticilliumdahliaeدر گلخانه‌های گرگان

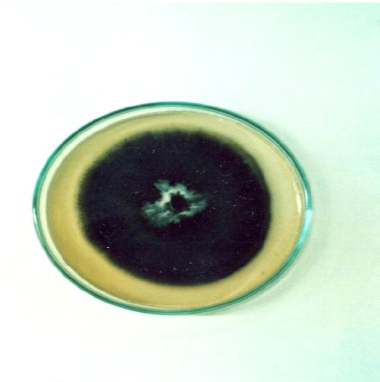
۲. علائم بیماری در باغ‌های زیتون

علاوه بر خشک شدن کامل یا توقف رشد در نهال‌های زیتون، خشکیدگی شاخه‌ها یا خشک شدن کامل اندام هوایی در درختان نیز مشاهده شد. بعضی از باغداران برای جوانه‌زنی و تولید شاخهٔ جدید با قطع شاخه‌های نسبتاً خشک‌شده به رشد مجدد شاخه‌های جدید کمک می‌کردند .برای جداسازی و شناسایی عامل بیماری شاخه‌های پژمردهٔ درختان زیتون، ریشه‌ها و خاک اطراف ریشهٔ گیاه آلوده جمع‌آوری و بررسی و قارچ عامل بیماری گونهٔ *Verticilliumdahliae* به فراوانی جداسازی و شناسایی شد.

۳. مشخصات قارچ عامل بیماری جداسازی‌شده

پرگنهٔ قارچ در محیط کشت PDA در ابتدا به‌رنگ سفید مایل به خاکستری و بعد از چند هفته به‌رنگ سیاه مشاهده می‌شد (شکل ۳a). پرگنه‌ها در دمای متوسط ۲۰ تا ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد رشد خوبی داشتند و روی آنها پس از چند هفته نقاط سیاه تشکیل می‌شد که همان میکرواسکلروت بودند. براساس مشخصات میکروسکوپی به‌ویژه فیالیدها، کنیدی‌ها و سایر مشخصات ظاهری و تشکیل میکرواسکلروت این قارچ به گونهٔ *Verticilliumdahliae*kleb. تعلق داشت (شکل ۳b) (Puhalla & Hummel,1983; Pegg & Brady, 2002).





a b

شکل ۳. پرگنهٔ قارچ*Verticilliumdahliae* عامل بیماری خشکیدگی شاخهٔ زیتون (a) در محیط کشت PDA و فیالیدوسپورهای قارچ عامل بیماری، مقیاس ۳۰ میلی‌میکرون (b)

۴. پراکنش و دوام عامل بیماری

قارچ عامل بیماری از نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از مناطق دارای آب‌وهوای معتدل و مرطوب مانند مشهد و گرگان بیشتر از سایر مناطق جداسازی شد. با این حال این بررسی نشان داد که قلمه‌های تهیه‌شده از نواحی اطراف طارم مانند رودبار در انتقال بیماری نقش زیادی داشتند. شیوع بیماری در مناطقی که کشت پنبه گسترش زیادی دارد مانند گرگان، یا در گذشته مورد کشت واقع می‌شدند مانند نواحی رودخانهٔ قزل اوزن در طارم بیشتر بود. پراکنش بیماری در باغ‌های زیتون تأسیس‌شده در مزارع پنبه‌کاری، جالیزکاری یا بسترهای تولید قلمه‌های زیتون که از خاک یا قلمه‌های آلوده استفاده می‌کردند، بیشتر مشاهده شد. بررسی‌ها نشان داد بعضی از شرکت‌های تولید قلمه‌های زیتون (شرکت نصب نیرو که سالیانه ۶۰۰۰۰۰ اصله نهال توزیع می‌کرد) به‌علت مواجه بودن قلمه‌ها با خاک‌های آلوده و تولید قلمه‌های حساس به بیماری، متحمل خسارت زیادی بودند.

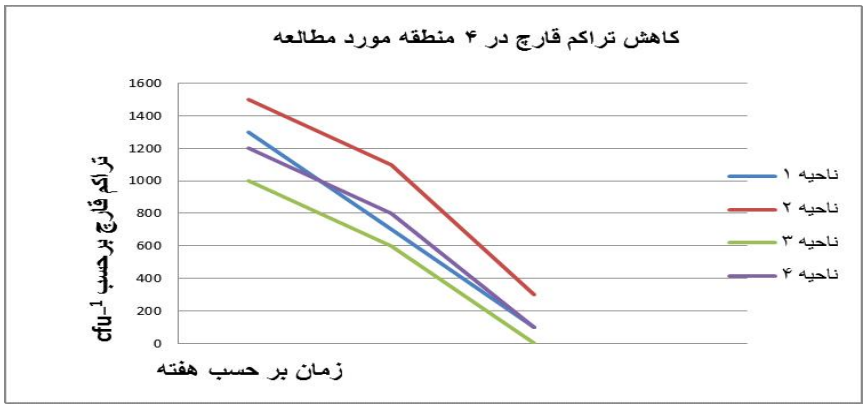
۵. تأثیر روش آفتاب‌دهی در کاهش جمعیت زادمایهٔ قارچ (cfu)در خاک آلوده

تراکم قارچ عامل بیماری در اثر افزایش دمای خاک به‌وسیلهٔ روش آفتاب‌دهی به‌شدت کاهش یافت. میانگین تعداد زادمایهٔ قارچ عامل بیماری در یک گرم خاک تحت بررسی قبل از آفتاب‌دهی در چهار ناحیه از مناطق طارم و گرگان cfu^{-1}۱۰۰۰،۱۵۰۰،۱۳۰۰و۱۲۰۰بود، درحالی‌که این میزان دو هفته بعد از آفتاب‌دهی به ۷۰۰ ،۱۱۰۰، ۶۰۰ و۸۰۰ رسید و بعد از شش هفته بهcfu^{-1}۱۰۰،

۳۰۰، ۰ و ۱۰۰ کاهش یافت (جدول ۱). میزان افزایش دما در خاک با دماسنج بررسی شد که نشان داد روش آفتاب‌دهی دمای خاک را بین ۱۴-۸ درجهٔ سانتی‌گراد افزایش داده است. در مناطق مورد بررسی دمای محیط دو هفته بعد از پوشش پلاستیک ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد بود، درحالی‌که دمای خاک در زیر پلاستیک ۴۳ درجهٔ سانتی‌گراد بود. دمای محیط شش هفته بعد از اعمال روش آفتاب‌دهی ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد بود، ولی در زیر پلاستیک به ۵۴ درجهٔ سانتی‌گراد رسید. همان‌طور که داده‌ها نشان می‌دهد، با استفاده از این روش می‌توان تراکم قارچ ورتیسیلیوم را به‌شدت کاهش داد. کاهش میانگین تراکم قارچ عامل پژمردگی در اثر استفاده از روش آفتاب‌دهی در مناطق تحت بررسی در شکل۴ مشاهده می‌شود.

جدول ۱. میانگین تراکم قارچ (cfu^{-1}) *Verticilliumdahliae* قبل از آفتاب‌دهی و دو و شش هفته بعد ازاعمال آفتاب‌دهی در منطقهٔ طارم (استان زنجان) و گرگان (استان گلستان)

مناطق تحت بررسی	تراکم قارچ در هنگام پوشش	تراکم قارچ دو هفته بعد از پوشش	تراکم قارچ شش هفته بعد از پوشش
۱	۱۳۰۰	۷۰۰	۱۰۰
۲	۱۵۰۰	۱۱۰۰	۳۰۰
۳	۱۰۰۰	۶۰۰	۰
۴	۱۲۰۰	۸۰۰	۱۰۰



شکل ۴. مقایسهٔ متوسط تغییرات تراکم جمعیت قارچ درخاک در چهار ناحیهٔ مطالعه‌شده در آب‌بر طارم (استان زنجان)

در تحلیل داده‌ها نیز از روش آماری تجزیهٔ واریانس دوطرفه استفاده شد p. Value کمتر از ۰/۰۵ اختلاف معنادار آماری در نظر گرفته شد و نتایج زیر به‌دست آمد.

جدول ۲. نتایج تجزیهٔ واریانس آفتاب‌دهی در منطقهٔ طارم (استان زنجان)

	SD	میانگین زادمایهٔ طارم	قبل از آفتاب‌دهی
P<۰/۰۱	۲۴۴/۹۴	۱۳۰۰	دو هفته بعد از آفتاب‌دهی
	۲۳۶/۲۹	۸۷۵	شش هفته بعد از آفتاب‌دهی
	۱۷۰/۷۸	۲۲۵	

با توجه به آزمون تعقیبی LSD بین زادمایهٔ خاک قبل از آفتاب‌دهی و دو هفته بعد از آفتاب‌دهی با p= /۰۲۳ و شش هفته بعد از آفتاب‌دهی p= /۰۰۱ و همچنین دو هفته بعد از آفتاب‌دهی با شش هفته بعد از آفتاب‌دهی با p= /۰۰۲ اختلاف معناداری وجود داشته است (جدول ۳).

جدول ۳. نتایج تجزیهٔ واریانس آفتاب‌دهی در منطقهٔ گرگان (استان گلستان)

	SD	میانگین زادمایهٔ گرگان	قبل از آفتاب‌دهی
P<۰/۰۱	۲۵۰	۱۱۲۵	دو هفته بعد از آفتاب‌دهی
	۲۱۶/۰۲	۷۰۰	شش هفته بعد از آفتاب‌دهی
	۹۵/۷۴	۷۵	

با توجه به آزمون تعقیبی LSD بین زادمایهٔ خاک قبل از آفتاب‌دهی و دو هفته بعد از آفتاب‌دهی با P= /۰۱۴ و شش هفته بعد از آفتاب‌دهی با P= /۰۰۱ و همچنین دو هفته بعد از آفتاب‌دهی با شش هفته بعد از آفتاب‌دهی با P= /۰۰۲ اختلاف معناداری وجود داشته است. از طرفی بین دو منطقهٔ طارم و گرگان با P= /۰۷ اختلاف معنادار آماری وجود نداشته و اثر متقابل نیز بین آفتاب‌دهی و نواحی (مناطق تحت مطالعه) با۹۹/ =P وجود نداشته است.

۶. اثر متقابل آفتاب‌دهی و ارقام مقاوم در کنترل بیماری

با استفاده از خاک آفتاب‌دهی‌شده که زادمایهٔ قارچ عامل بیماری (cfu) به صفر رسیده بود در یکی از گلخانه‌های تولید قلمه، همراه با کشت نهال‌های تهیه‌شده از درختان نسبتاً مقاوم از باغ‌های زیتون طارم، اثر متقابل این دو عامل، به تولید نهال سالم و کاهش آلودگی بیماری کمک زیادی کرد. براساس روش محققان، درصد آلودگی نهال‌ها در گلدان‌های تحت آزمایش بررسی و در پنج سطح به‌صورت 1= 0-20%, 2= 20-40%, 3=40-60%, 4=60-8%, 5=80-100% دسته‌بندی شد (Masooud*etal*., 2010; Khalid, *et al*., 2002).

نهال‌های کشت‌شده در گلدان‌های حاوی خاک آفتاب‌دهی‌شده و ارقام نسبتاً مقاوم حدود ۱۰ درصد آلودگی نشان دادند و در سطح ۱ قرار گرفتند. نهال‌های ارقام نسبتاً مقاوم کشت‌شده در خاک آفتاب‌دهی‌نشده با آلودگی حدود ۳۰ درصد در سطح ۲ جای گرفتند، درحالی‌که نهال‌های معمولی کشت‌شده در خاک آفتاب‌دهی‌نشده بیش از ۸۰ درصد آلودگی و حتی پژمردگی کامل داشتند و در سطح ۵ قرار گرفتند (شکل 1c). با توجه به اینکه اختلاف معنادار آماری بین کاهش زادمایهٔ خاک در نواحی تحت مطالعه وجود نداشت (P= /۹۹)، استفاده از خاک آفتاب‌دهی‌شده در هر منطقه در کاهش زادمایهٔ عامل بیماری مؤثر است و به‌ویژه چنانچه از نهال‌های نسبتاً مقاوم بهره‌برداری شود، کاهش زادمایه بیشتر خواهد شد. نتایج حاصل از تأثیر آفتاب‌دهی و نوع قلمه (کولتیوار) و همچنین اثر متقابل آنها در کاهش بیماری به‌صورت تجزیهٔ واریانس بیان شده است (جدول ۴). همان‌گونه که از جدول بالا برمی‌آید تأثیر آفتاب‌دهی و نیز منشأ قلمه (کولتیوار) و همچنین اثر متقابل آفتاب‌دهی و کشت قلمه‌های نسبتاً مقاوم در خاک مذکور در کاهش بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی بسیار معنادار بوده است.

جدول ۴. نتایج تجزیهٔ واریانس شدت متوسط نهایی بیماری (Final mean severity) در قلمه‌های کشت‌شده در دو نوع بستر شاهد و آفتاب‌دهی‌شده

منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات	F
بستر کشت	۱	۴.۰۸	۲.۵ **
کولتیوار	۱	۷۰.۱	۸۴**
بستر کشت * کولتیوار	۱	۱۰	۱۲.۱**
خطای آزمایشی	۸	۰/۹	

**: اختلاف معنادار در سطح ۱ درصد.

بحث

بیماری خشکیدگی شاخه‌های درختان زیتون از قدیم در ایران وجود داشته است، ولی اخیراً به‌علت تأسیس و توسعهٔ باغ‌های جدید این بیماری گسترده‌تر شده است . گرچه مطالعات زیادی در این زمینه اجرا نشده، در سال‌های اخیر گزارش‌هایی درخصوص گسترش این بیماری در بعضی مناطق کشور بیان شده است (Sanei & Zarei,1999). سیاست افزایش کشت زیتون در قالب

طرح طوبی، عدم انتخاب ارقام مناسب و مقاوم به بیماری، خاک‌زی بودن و پراکنش عامل بیماری خشکیدگی شاخهٔ نهال‌ها و درختان زیتون در اقالیم مختلف در گسترش بیماری مؤثر بوده است. توانایی قارچ *Verticilliumdahlilae* برای آلوده کردن تعداد زیادی از گیاهان باغی، زراعی و علف‌های هرز و امکان بقای آن در خاک برای سالیان متوالی زمینهٔ آلودگی نهال‌های زیتون را در باغ‌های تازه‌تأسیس هموار می‌کند(Bhat & Subbarao, 1999). دوام قارچ عامل بیماری در خاک یکی از مسائل مهمی است که باید به‌ویژه در موارد تأسیس باغ جدید با دقت ملاحظه شود. تحقیقات نشان می‌دهد میکرواسکلروت قارچ عامل بیماری می‌تواند ۱۰ تا ۱۵ سال در خاک باقی بماند (Mol, 1995).طبیعتاً احداث باغ‌های زیتون در مزارعی که قبلاً به کشت سیب‌زمینی، پنبه، بادمجان، خیار و سایر گیاهان جالیزی اختصاص داشته، امکان آلودگی به بیماری را بیشتر خواهد کرد. عامل بیماری به‌عنوان نوعی قارچ خاک‌زی، بیشتر از ریشه وارد میزبان شده و موجب انسداد آوندی و خشکی بعضی شاخه‌های گیاه آلوده می‌شود (Saremi, *et al.*, 2010a).

با اینکه عامل بیماری در همهٔ مناطق بررسی‌شده حتی مشهد و طارم جدا شد، گلخانه‌های گرگان آلوده‌تر بودند و قارچ عامل بیماری با شدت بیشتری جداسازی شد. مطالعات نشان می‌دهد در مناطقی که تراکم نماتودهای بیمارگر مثلاً *Pratylenchuspenetrans* یا *Meloidogyne* spp. بیشتر باشد، بیماری خشکیدگی شاخه‌های زیتون افزایش می‌یابد (Martin, *et al*., 1982) . به‌نظر می‌رسد، نماتودها با ایجاد زخم در ریشه‌ها موجب نفوذ بیشتر قارچ عامل بیماری به درون ریشه می‌شوند (Mol, 1995). از طرفی کاهش حجم ریشه‌ها و پایین آوردن جذب مقدار آب و املاح، خسارت قارچ عامل بیماری را افزایش می‌دهند. محققان در نظر دارند با استفاده از بعضی گونه‌های پوده‌زی (غیر بیمارگر) ورتیسیلیوم به کنترل نماتودها بپردازند (Arabsalmani & Ghanbarnia , 2002). در این روش می‌توان با افزودن بعضی از قارچ‌ها در خاک به کاهش جمعیت نماتودها پرداخت و از افزایش بیماری خشکیدگی زیتون جلوگیری کرد. تحقیقات مختلفی برای کنترل این بیماری در سراسر دنیا در حال اجرا است (Jiménez-Díaz, *et al*, 2012).

بررسی‌های اولیه در باغ‌های طارم نشان داد بعضی از ارقام مقاومت و برخی دیگر حساسیت بیشتری به بیماری داشتند. دفتر طرح توسعهٔ زیتون وزارت جهاد کشاورزی و مؤسسهٔ تحقیقات اصلاح و تهیهٔ نهال و بذر با مجامع بین‌المللی وزارت کشاورزی تصمیم دارند مجموعه‌ای از ژنوتیپ‌های جمع‌آوری‌شده در اسپانیا (بزرگ‌ترین بانک ژن زیتون جهان) را در ایستگاه تحقیقات زیتون طارم کشت کنند. بررسی‌های عمیق در خصوص وضعیت ارقام زیتون کشور صورت نگرفته، اما تحقیقاتی در حال اجرا است و امید می‌رود امکان بهره‌برداری از ارقام مناسب فراهم شود (www.tors.ir). بی‌تردید انتخاب ارقام مقاوم و عدم انتقال آلودگی به‌وسیلهٔ قلمه‌ها و استفاده از خاک‌های غیرآلوده، در کاهش آلودگی بسیار مؤثر خواهد بود (Melouk *et al.*, 1983).

با توجه به خاک‌زاد بودن قارچ عامل بیماری و مساعدت پاتوژن‌های خاک‌زاد از جمله گونه‌های فوزاریوم یا نماتودها در توسعهٔ بیماری، استفاده از روش آفتاب‌دهی در کاهش بیماری بسیار مؤثر خواهد بود. با این روش کم‌هزینه و مفید در مناطق نسبتاً گرم می‌توان ضمن حفظ سلامت محیط زیست در راستای کاهش بیماری اقدامات مناسبی اعمال کرد. مرطوب کردن خاک و کاربرد پوشش پلاستیکی در وضعیت آفتابی و مناسب بودن گرمای خورشیدی (۳۰ تا ۴۰ درجهٔ سانتی‌گراد)، موجب افزایش دمای سطح خاک (۴۰ تا ۵۰ درجه در ۱۰ سانتی‌متری خاک محل تجمع جمعیت قارچ) و کاهش جمعیت قارچ خواهد شد. این روش در مناطقی مثل طارم یا جنوب کشور که وضعیت آفتابی و دمای مناسبی دارد بهتر اعمال‌شدنی است. نتایج تحقیقی که در استان زنجان (طارم) صورت گرفت، بیان‌کنندهٔ تأثیر مناسب این روش در کاهش جمعیت قارچ عامل بیماری پژمردگی نهال‌های زیتون است.

این روش در بعضی از مناطق کشور نیز با موفقیت اجرا شده است، به‌طوری‌که کاهش مناسب جمعیت قارچ *Fusariumoxysporum* عامل پژمردگی شاخه‌های خرما در اهواز، *F. solani* عامل بوته‌میری لوبیا در زنجان،

F. pseudograminearum عامل پوسیدگی طوقه در اصفهان و همچنین کاهش جمعیت قارچ *phytophthora* spp.عامل پژمردگی درختان پسته در کرمان گزارش شده است (Saremi *et al*., 2007; Ashrafi *et al*., 2010; Saremi and Saremi, 2013).کاهش جمعیت قارچ عامل بیماری در خاک کمک زیادی به کنترل بیماری در باغ‌های آلوده خواهد کرد(López-Escudero & Blanco-López, 2007). کنترل نسبی بیمارگرهای خاک‌زاد مانند *Fusariumsolani*, *Sclerotiumrolfsii*, *Pythiumaphanidermatum*, *Verticilliumdahliae*, *Phytophthora*spp. در چندین کشور مانند آمریکا، چین، برزیل و ایتالیا به اثبات رسیده است (Tjmos, 1991; Saremi*et al*., 2010; Ashrafi, *et al.*, 2010)

با توجه به شیوع بیماری در اغلب مناطق زیتون‌کاری کشور و نیز امکان استفاده از توان حرارتی خورشید در این نواحی، به‌ویژه چنانچه روزهای آفتاب بیشتری داشته باشند، روش آفتاب‌دهی بسیار مؤثر و مفید است.

نظر به احتمال وجود عامل بیماری خشکیدگی زیتون در اغلب مناطق و بقا و دوام زیاد آن در خاک و گسترش تأسیس باغ‌های زیتون، استفاده از این روش مناسب و کم‌هزینه، قبل از کشت توصیه می‌شود. همان‌گونه که این بررسی نشان داد، چنانچه فراهم کردن قلمه از درختان نسبتاً مقاوم امکان‌پذیر باشد، کشت آنها در گلدان‌های حاوی خاک آفتاب‌دهی‌شده (Solarized soil) در جلوگیری از گسترش بیماری و کنترل نسبی آن کمک شایانی خواهد کرد.

سپاسگزاری

از حوزهٔ معاونت پژوهشی دانشگاه زنجان برای حمایت در اجرای این تحقیق (طرح مصوب شمارهٔ ۸۱۱۱۲) و همکاری‌های مستمر محققان پژوهشکدهٔ فناوری‌های نوین زیستی دانشگاه زنجان در اجرای طرح تشکر می‌شود.

REFERENCES

1. Annesi, T.& Motta, E.(1994). Soil solarization in an Italian forest nursery. *European Journal of Forest Pathology*, 24, 203-209.
2. Antoniou, P.P., Markakis, E.A. Tjamos, S.E., Paplomatas, E.J.&Tjamos, E.C. (2008). Novel methodologies in screeningand selecting olive varieties and root-stocks for resistance to *Verticilliumdahliae*.*European Journal of Plant Pathology*, 122, 549–560.
3. Arabsalmani, M.&Ghanbarnia, K. (2002). Role of nematodes on the severity of Cotton *Verticilium* wilting in Golestan province. In:*Fifteen plant protection symposium*, University of Razi, pp. 111.
4. Ashrafi, S.J., Rastegar, M.F.&Saremi, H. (2010). Rosemary wilting disease and its management by soil solarization technique in Iran. *African Journal of Biotechnology*, 9, 7048-7057.
5. Azeri, T. (1993). Research on olive leaf spot, olive knot and verticillium wilt of olive in Turkey. *EPPO*, 23, 437-440.
6. Barbara, H. (2001). *Olive diseases in south Australia*. Olive press, Auspp..
7. Bhat, R.G.&Subbarao, K.V. (1999). Host range specificity in *Verticilliumdahliae*, *Phytopathology*, 69, 1218-1225.
8. Caballero, J.M., Perez-Hernandes, J., Blanco-Lopez, M.A.& Jimenez-Diaz, R.M. (1981). *Olive a new host for VerticilliumdahlliaeKlep*, Spain olea, pp.10.
9. Colella C., Miacola, C., Amenduni, M., D'Amico, M., Bubici, G.&Cirulli, M. (2008). Sources of Verticilliumwilt resistance in wild Olive germplasm from the Mediterranean region.PlantPathology, 57, 533–539.
10. Dervis, S., Erten, L., Soylu, S., Tok, F.M., Kurt, S., Yildiz, M.&Soylu, E.M. (2007). Vegetative compatibility groups in *Verticilliumdahliae*isolates from olive in Turkey. *European Journal of Plant Pathology*,119, 437-447.
11. Jiménez-Díaz, R.M., Giovanni Bubici, M.C., Jiménez-Gasco, M., Antoniou, P.P.&Tjamos, E.C. (2012). Verticilliumwilt, a major threat to olive production, current status and future prospects for its management.*Plant Disease*, 96(3), 304-329.
12. Karajeh, M.&Al-Raddad, A. (1999). Effect of VA mycorrhiz of fungus (Glomusmosseas) on *Verticilliumdahliae*.*Olive Agriculture Science*, 26(3), 338-341.
13. Khalid, P., Akhtar, S.&Alam, S. (2002). Assessment keys for some important diseases ofmango. PakistanJournalof Biological Sciences. 5(2),246-250.

14. López-Escudero, F.J.&Blanco-López, M.A. (2007). Relationship between the inoculum density of *Verticilliumdahliae*and the progress of verticilliumwilt of olive. Plant Disease, 91, 1372-1378.
15. Lopez–Escudero, F.J.& Blanco-Lopez, M.A. (1997). Control of Verticillium wilt by soil solarization in established olive orchards in Andalucda (South Spain). *In the proceeding of the seventh internation ver., Symposium cape Sounion*, Athnens, Greece, pp. 88.
16. Lopez-Herrera, C.J., Perez-Jimenez, R.M., Basallote-Ureba, M.J., Zea Bonilla, T.,&Melero-Vara, J.M.(1997). Effect of soil solarization on the control of Phytophthora root rot in avocado. *Plant Pathology*,. 46, 329-340.
17. Masood, A.,Saeed, S.,Iqbql, N., Muhamad Tariq, M.&Munawer Reza, K. (2010). Methodology for the evaluation of symptoms severity of Mango sudden death syndrome in Pakistan.*Pakistan Journal of Botany*, 42(2), 1289-1299.
18. Martin, M.J., Riedel, R.M.&Rowe, R.C. (1982). *Verticilliumdahliae* and *Pratylenchuspenetrans*, interactions in the early dying complex of potato in Ohio. *Phytopathology*, 72, 640-644.
19. Melouk, H.A., Wads Worth, D.F.&Sherwood, J.L. (1983). Effect of Veticillium wilt on root and top weight of Peanut cultivar, Tamnut 74.*Plant Diseases*, 67, 1349-1350.
20. Minuto, A., Spadaro, D., Garibaldi, A.&Gullino, M.L.(2006). Control of soil-borne pathogens of tomato using a commercial formulation of *Streptomyces griseoviridis* and solarization. *Crop Protection*, 25, 468-475.
21. Mol, L. (1995). Formation of microsclerotia of *Verticilliumdahliae*on various crops. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 43, 205-215.
22. Pegg, G.F.& Brady, B.L. (2002). *Verticilliumwilts*. Wallingford, UK, CAB International.
23. Puhalla, J.E.& Hummel, M. (1983). Vegetative compatibility groups with *inVerticilliumdahliae*.*Phytopathology*, 73, 1305-8.
24. Rodriguez, D., lancolopez, B., Paport, M.A.&Jimenezdiz, H.F. (1993). *Presentstatus of Verticillium of olive in souther Spain*. EPPO, Spain, 23, 513-56.
25. Sanei, J.&Zarei, J. (1998). Wilting of olive by verticilium, olive disases, *second conference*, Azad University of Gorgan.
26. Saremi, H.&Saremi, H. (2013). Isolation of the most common Fusarium species and the effect of soil solarization on main pathogenic species in different climatic zones of Iran.*European Journal of Plant Pathology*, 137:585-596.
27. Saremi, H., Amiri, M.E.&Mirabolfathi, M. (2010a). Application of soil solarization for controlling soil borne fungal pathogens in newly established pistachio and olive orchards, USA. *International Journal Fruit Science*, 10, 143–156.
28. Saremi, H., Ammarellou, A., Saremi, H. (2010b). Garlic white rot caused by *Sclerotiumcepivorum*and its managing by soil solarization in Zanjan province, northwest Iran. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 8,132-135.
29. Saremi, H., Okhovvat, S.M.&Ashrafi, S.J. (2007). Wilting of date palm branches by Fusariumoxysporumin south of Iran and its control managements with soil solarization method. *Communications in Agricultural Applied Biological Sciences*, 72, 831-837.
30. Tabatabaei, M. (1995). *Olive and its oil*. Olive cultivation development, pp. 400.
31. Tarom Olive Research station, (2012). Retrived May 12, 2011, from www.tors.ir
32. Tjmos, E.C. (1991). Recovery of olive trees wilt Verticillium wilt after individnal application and soil solarization in establish olive orchard.*Plant Disease*, 75(6), 557-562.
33. Zeinalou, A., Nosrati, S. (1999). *Olive*.Jehade-Keshavarzi, Research and agricultural education,Zanjan. pp. 18.