پژوهش‌های کاربردی در گیاه‌پزشکی/ جلد ۴ شماره ۱/ سال ۱۳۹۴

# شناسایی عوامل قارچی مرتبط با بیماری‌های تنه درختان بادام در استان آذربایجان‌شرقی

مریم برادران باقری[۱]، مهدی ارزنلو[۲*] و اسدالله بابای اهری[۲]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.
۲- دانشیار و استاد گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز.
*مسئول مکاتبه: arzanlou@hotmail.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۱۵

**چکیده**

بیماری‌های تنه از مهم‌ترین بیماری‌های درختان بادام بوده و به عنوان یک تهدید بالقوه در مناطق کشت و پرورش درختان بادام مطرح می‌باشد. علی‌رغم شیوع بیماری‌های تنه در باغ‌های درختان بادام در استان آذربایجان‌شرقی، عوامل قارچی همراه با این بیماری‌ها ناشناخته باقی مانده‌اند. در این بررسی گروه‌های قارچی مرتبط با بیماری‌های تنه درختان بادام در استان آذربایجان‌شرقی براساس داده‌های ریخت‌شناختی و داده‌های توالی نوکلئوتیدی ناحیه ITS-rDNA مورد شناسایی قرار گرفت. در مجموع ۱۱۵ جدایه قارچی از نمونه‌های بیمار دارای علایم شانکر، پوسیدگی و تغییر رنگ آوندی جداسازی و خالص‌سازی گردید. شناسایی جدایه‌های قارچی در سطح گونه با بررسی‌های ریخت‌شناختی و داده‌های توالی نوکلئوتیدی ناحیه ITS-rDNA صورت گرفت. گونه *Collophora hispanica* با درصد فراوانی ۶۱/۷۳ درصد به‌عنوان گونه غالب شناسایی‌شد. هویت جدایه‌های این گونه با استفاده از داده‌های توالی ناحیه ITS تایید گردید. هم‌چنین گونه‌های *Cytospora chrysosperma*، *Truncatella angustata*، *Beauveria bassiana*، *Acrostalagmus luteoalbus*، *Quambalaria* sp.، *Clonostachys rosea*، *Fusarium proliferatum*، *F. acuminatum*، *F. torulosum*، *F. solani*، *F. avenaceum*، *F. oxysporum*، *Paecilomyces variotii*، *Trichothecium roseum*، *Phellinus* sp. و *Phoma* sp. با درصد فراوانی کمتر جداسازی گردیدند. کلیه گونه‌های قارچی جداسازی شده به غیر از *C. chrysosperma*، *P. variotii*، *C. rosea*، *T. roseum* و *Phellinus* sp. از روی بادام برای ایران جدید می‌باشند. در ضمن گزارش گونه‌های *T. angustata*، *F. torulosum*، *F. proliferatum* و *Quambalaria* sp. از روی بادام برای دنیا نیز جدید می‌باشد. با شناسایی گونه‌های قارچی همراه با بیماری زوال بادام در منطقه، مطالعه بیماری‌زایی این گونه‌ها روی بادام و در نهایت اعمال راه‌کارهای مناسب برای مدیریت این بیماری مرکب در آینده امکان‌پذیر خواهد شد.

**واژه‌های کلیدی**: آذربایجان‌شرقی، بادام، شانکر، *Bortyosphaeria*،*Collophora*.

**مقدمه**

آذربایجان‌شرقی با دارا بودن ۱۰۰۰۰ هکتار باغ بادام و با تولید بیش از ۱۸۰۰۰ تن محصول در هر سال، ۶/۸ درصد سطح زیر کشت بادام و ۱۸/۵ درصد بادام تولیدی در کشور را به خود اختصاص داده است (اسکندری و همکاران، ۲۰۰۹). طبق آمار سازمان خوار و بار و کشاورزی جهانی (FAO) در سال ۲۰۰۸ سطح زیر کشت بادام در دنیا ۱۸۶۸۶۷۲ هکتار با میزان تولید ۲۱۱۲۸۱۵ تن و متوسط عملکرد ۱۱۳۱ کیلوگرم در هکتار برآورد شده است. در این میان ایران با داشتن ۱۷۲۰۰۰ هکتار سطح زیر کشت، رتبه سوم و با تولید ۱۱۰۰۰۰ تن بادام، رتبه چهارم و حدود پنج درصد تولید جهانی این محصول را در بین کشورهای تولید کننده بادام در جهان دارا می‌باشد (فائو، ۲۰۰۸).

بیماری‌های تنه خسارت قابل توجهی را به بادام در سراسر دنیا وارد می‌کنند و به عنوان یک تهدید بالقوه در تولید این محصول به شمار می‌روند. این بیماری‌ها درختان بادام را در کلیه مراحل رشد تحت تاثیر قرار می‌دهند و در نهایت منجر به مرگ تدریجی و یا مرگ سریع میزبان شده که عمدتا در درختان جوان مشاهده می‌شود (گراماخه و همکاران، ۲۰۱۲). علائم بیماری به صورت کاهش رشد، خشکیدگی تاج درخت و شانکر روی شاخه‌های فرعی و اصلی تنه همراه با ترشح صمغ مشاهده می‌شود که اصطلاحا "زوال" نیز نامیده می‌شود. بیمارگرهای متعددی در ایجاد بیماری زوال و سرخشکیدگی بادام نقش دارند که در این بین قارچ‌ها دارای اهمیت خاصی می‌باشند. گروه‌های قارچی متعددی شامل گونه‌های جنس *Collophora*، *Cytospora*، *Fusarium*، *Verticillium*، *Pythium*، *Phaeoacremonium*، *Botryosphaeria* و *Phomopsis* در ایجاد این بیماری دخیل هستند.

عارضه مرگ و میر درختان بادام از بخش‌هایی از مناطق کشت و پرورش بادام در ایران نیز گزارش شده و از جمله عوامل بیماری‌زای شناسایی شده می‌توان به *Botryosphaeria dothidea* از بناب، *B. ribis* از شهرکرد، *Cytospora leucosperma* از سنندج، *Fusarium dimidiatum* از دزفول، کرمان، شهداد و *Verticillium dahliae* از استان‌های آذربایجان-شرقی، همدان، کرمان و شاهرود اشاره کرد (ارشاد، ۱۳۸۸). گونه *Rosellinia necatrix* از باغات ارومیه، تبریز و اصفهان و گونه‌هایی از *Phytophthora* از درختان بادام استان فارس گزارش گردیده است (به نقل از دیزجی و همکاران، ۱۳۸۵). با وجود اهمیت زیاد عوامل قارچی مرتبط با ریشه، طوقه و تنه بادام در کاهش سطح زیر کشت و میزان تولید محصول بادام در استان آذربایجان‌شرقی و ایران توجه کمتری به بیماری‌های تنه و شاخه درختان بادام شده و عوامل قارچی همراه با این بیماری‌ها عموما ناشناخته باقی مانده‌اند. در این تحقیق تلاش گردید تا قارچ‌های مرتبط با بیماری‌های تنه درختان بادام در استان آذربایجان-شرقی با استفاده از داده‌های ریخت‌شناختی و مولکولی شناسایی شوند.

## مواد و روش ها

### نمونه‌برداری و جداسازی عوامل قارچی همراه با بیماری‌های تنه

طی این تحقیق در فصول تابستان و پاییز سال ۱۳۹۱ و بهار سال ۱۳۹۲، نمونه‌برداری از باغات دارای علائم بیماری‌های تنه و زوال در مناطق عمده کشت بادام در استان آذربایجان‌شرقی صورت گرفت و تعداد ۱۰۰ نمونه از نواحی کشت بادام در تبریز و حومه، بناب، عجب شیر، آذرشهر، شبستر، مراغه، ملکان و ایلخچی جمع‌آوری گردید. علائم ظاهری از قبیل شانکر روی شاخه‌های اصلی و فرعی و تنه همراه با ترشحات صمغی، پوسیدگی میوه و ریزش آن و زردی و خشکیدگی تاج درخت به همراه موقعیت جغرافیایی و اطلاعات باغ مورد نمونه‌برداری از قبیل سن باغ، مساحت باغ، نحوه آبیاری، ارقام بادام کاشته شده، سابقه بیماری و سموم مورد استفاده ثبت گردید. شاخه‌هایی به قطر ۲۰-۱۵ سانتی متر با علائم شانکر بر روی آن از درخت بیمار جدا شدند و این نمونه‌ها در داخل پاکت‌های کاغذی به آزمایشگاه منتقل گردیدند. البته علاوه بر نمونه‌های شاخه، تعدادی نمونه ریشه هم از درختان بادامی که به طور کامل از بین رفته بودند و هیچ گونه آثار برگ و میوه بر روی آنها دیده نمی‌شد جمع‌آوری گردید. برای آماده‌سازی نمونه‌ها جهت کشت، قطعاتی به طول ۵-٤ سانتی‌متر از بخش‌های آلوده بریده شده و در محلول هیپوکلریت سدیم ۱/۵درصد به مدت دو دقیقه ضدعفونی شدند. سپس با آب مقطر استریل شسته شده و با کاغذهای صافی استریل خشک گردیدند. بعدا قطعات کوچکی به ابعاد تقریبی ۰/۵×۰/۵×۰/۵ میلی‌متر از بخش‌های میانی

نواحی تغییر رنگ یافته و سالم بافت برش داده شدند. این قطعات زیر هود میکروبیولوژیکی به مدت ۳۰ ثانیه مجددا در محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد و یا اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی گردیدند. پس از سه بار شستشو در آب مقطر استریل با کاغذ صافی استریل خشک شدند و روی محیط کشت PDA[1] و یا MEA[2] اسیدی شده (دو میلی لیتر اسید لاکتیک ۲۰ درصد در یک لیتر محیط کشت) قرار داده‌شدند. تشتک‌های پتری در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و روزانه بررسی شدند. خالص‌سازی جدایه‌های قارچی به روش تک اسپور یا نوک ریسه روی محیط کشت PDA و یا MEA انجام شد. کشت‌های خالص در کلکسیون کشت‌های زنده گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تبریز (CCTU)[3] نگه‌داری گردیدند.

**شناسایی جدایه‌ها بر اساس صفات ریخت‌شناختی**

شناسایی جدایه‌های مورد نظر با استفاده از کلیدهای موجود و توصیف‌های ارائه شده در منابع انجام گرفت. ویژگی‌های ماکروسکوپی جدایه‌ها شامل رنگ و نرخ رشد پرگنه، شکل پرگنه و تولید یا عدم تولید رنگدانه و دیگر خصوصیات مشاهده شده یادداشت شد. ویژگی‌های میکروسکوپی شامل تشکیل و یا عدم تشکیل کنیدیوماتا، نوع کنیدیوماتا و مکانیسم کنیدی‌زایی مورد بررسی قرار گرفت. به منظور مطالعه ویژگی‌های میکروسکوپی جدایه‌ها مانند رنگ و قطر ریسه، ساختارهای اسپورزایی قارچ (کنیدیوفور، کنیدی) و خصوصیات میکروسکوپی دیگر از تکنیک کشت لام استفاده شد و در مرحله آخر شناسایی بر-اساس کلیدهای استاندارد قارچی بر اساس داده‌های ریخت شناختی به دست آمده انجام گردید.

[1]Potato Dextrose Agar
[2]Malt Extract Agar
[3]Culture Collection of Tabriz University

**شناسایی مولکولی جدایه‌ها**

**استخراج DNA ژنومی**

جدایه‌های قارچی در تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت MEA کشت شده و در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت هفت الی ۱۰ روز نگهداری شدند و پس از رشد کافی، میسلیوم با استفاده از اسکالپل تیز استریل جمع آوری و استخراج DNA مطابق روش مولر و همکاران (۱۹۹۲) انجام شد. کمیت و کیفیت DNA به دست آمده به روش اسپکتروفتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت.

**تکثیر ناحیه ITS-rDNA**

ناحیه فاصله انداز داخلی DNA ریبوزومی (ITS-rDNA[4]) با استفاده از آغازگر رفت ( ITS1 = 5'TCCGTAGTTGGACCTGCGG3') و برگشت (ITS4 = 5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3') در تعداد ۱۵ جدایه منتخب با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز تکثیر شد. مخلوط واکنش حاوی ۱۵-۱۰ نانو گرم DNA ژنومی الگو، بافر واکنش 1X، کلرید منیزیم ۰/۵ میلی مول، ۰/۲ میلی مول از هر یک از dNTP ها، پنج پیکومول از هر یک از آغازگرها، ۰/۵ واحد آنزیم DNA پلی مراز و آب دیونیزه استریل بود. حجم واکنش با استفاده از آب مقطر دوبار استریل به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. چرخه‌های حرارتی اعمال شده شامل یک چرخه دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، به مدت پنج دقیقه جهت واسرشت سازی اولیه، ۳٦ چرخه تکثیر شامل واسرشت سازی در دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال آغازگرها در دمای ۵۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و بسط در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ٦۰ ثانیه و در نهایت یک چرخه بسط نهایی به مدت هفت دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. محصول واکنش روی ژل آگارز یک درصد حاوی ۰/۱ میکروگرم بر میلی‌گرم اتیدیوم

[4]Internal Transcribed Spacer

برومایـد در بـافر 1X[1] TAE توسـط دسـتگاه عکس‌برداری از ژل تحت نور ماوراء بـنفش (طـول‌مـوج ۳۱۲ نانومتر) بررسی شدند.

## توالی‌یابی و تبارزایی

واکنش ترادف‌یابی نوکلئوتیدی بوسیله کیت تجارتی بیـگ‌دای BigDye ® Terminator V301 Cycle Sequencing kit سـاخت کارخانـه Applied Biosystems کالیفرنیا (آمریکا) و مطـابق دسـتورالعمل کارخانه صورت‌گرفت. تجزیه‌تحلیل نتایج با اسـتفاده از دسـتگاه® .ABI persim ۳۷۰۰ انجـام شـد. تـوالی‌هـای نوکلئوتیـدی بـا نـرم‌افـزار SeqMan (Lasergene package, DNAstar, Madison, USA) بررسـی و ویرایش شدند و سپس با توالی‌هـای موجـود در بانـک ژن مقایسه گردیدنـد(http://www.ncbi.nlm.nih.gov). زیر هم‌چینی جدایه‌ها با اسـتفاده از نـرم‌افـزار Mega 5 انجام‌شد. درخت فیلوژنتیک نیز با نرم‌افـزار Mega 5 و بـه روش پیوسـت همسـایه[2] ترسـیم و روابـط خویشاوندی جدایه‌ها مورد بررسی قـرارگرفـت. جهـت حصول اطمینان از گروه‌بندی ایجادشده، شاخص بوت-استرپ[3] با ۱۰۰۰ تکـرار اعمـال و ارزش‌عـددی آن بـه-صورت درصد در بالای گروه‌ها ذکر گردید.

## نتایج

در طی بازدید از مناطق عمده کشت بادام در استان آذربایجان‌شرقی مشخص گردید که علائم بیماری‌هـای تنه درختان بادام در اکثر باغات این استان وجـود دارد و شیوع ایـن بیمـاری در باغـات مسـن و فاقـد مراقبـت نسبت به باغات جوان بیشتر است. بیشترین سطح زیـر کشت بادام در منطقه از نوع بادام سنگی بود کـه علائـم بیماری در روی آنها اغلب به صورت شـانکر شـاخه و تنه، سرخشکیدگی و ضعف عمومی، زوال و زرد شـدن و خشکیدگی یک طرفه و پوسیدگی میوه مشـاهده مـی-شد. در مناطقی از استان که ارقام کاشته شده بـادام از نوع ارقام اصـلاح شـده کـه توسـط مؤسسـه تحقیقـات اصلاح و تهیـه نهـال و بـذر معرفـی شـده بودنـد (رقـم آذر۵۰ و سهند)، علائم بیماری در ارتباط با زوال کمتـر مشاهده شد و در ضمن به دلیل جـوان بـودن باغـات و مراقبت و رسیدگی مـداوم، اسـتفاده از اصـول صـحیح آبیاری و رعایت اصول باغبـانی در کاشـت نهـال‌هـا و تقویت درختان، شیوع عارضه زوال در این باغات کمتر مشهود بود. در برخی از مناطق بادام‌کـاری اسـتان کـه قدمت باغات بسیار بالا بـود و ایـن باغـات بـه صـورت سنتی بدون رعایت اصول باغبانی کاشته شـده بودنـد، بیشترین علائـم مـرتبط بـا بیمـاری‌هـای تنـه مشـاهده گردید. از طـرف دیگـر قـدمت باغـات و درختـان، عـدم رسیدگی و مراقبـت و کمبـود آب باعـث شـده بـود کـه درختان تحت تنش قرار گرفته و مستعد آلودگی باشـند. در طـول نمونـه‌بـرداری از باغـات بـادام در اسـتان آذربایجان‌شرقی به تعداد ۱۰۰ نمونـه جمـع‌آوری شـد. علائم ظـاهری در شـکل‌هـای ۱ تـا ۳ نشـان داده شـده است.

**شکل ۱- شانکر شاخه و تنه درختان بادام همراه با ترشحات صمغی (اصلی).**

**شکل ۲- زرد شدن و خشکیدگی یک طرفه در اواسط تابستان به همراه پوسیدگی میوه (اصلی).**

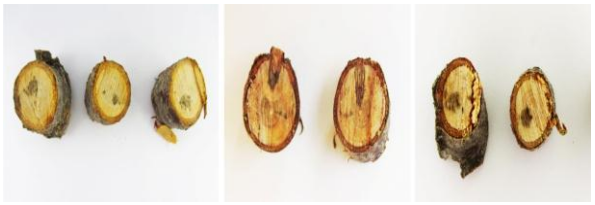
[5]Tris acetate-EDTA
[2]Neighbor Joining
[3]Bootstrap

شکل ۳- سرخشکیدگی و ضعف عمومی درختان بادام (اصلی).

در این میان، شانکر شاخه و تنه همراه با ترشحات صمغی ۳۷ درصد، سرخشکیدگی و ضعف عمومی ۳۳ درصد، زرد شدن و خشکیدگی یک طرفه ۳۰ درصد در باغات قابل مشاهده بودند و ارقام بادام سنگی بیشترین علائم را داشتند. علائم داخلی با تهیه برش عرضی و بررسی تغییر رنگ و پوسیدگی‌های آوندی مورد بررسی قرار گرفت که در مجموع، سه نوع تغییر رنگ و قهوه‌ای شدن در سطح آوندهای برش یافته قابل مشاهده بودند (شکل‌های ٤ تا ٦).

شکل ٤- گرفتگی آوندی و قهوه‌ای شدن در مقطع عرضی چوب از نوع دایره‌ای[1] (اصلی).

شکل ٥- قهوه‌ای شدن چوب در مقطع عرضی از نوع قطاعی[2] (اصلی).



شکل ٦- گرفتگی آوندی در مقطع عرضی چوب از نوع نقطه‌ای[3] (اصلی).

نتایج این بررسی نشان داد که بیشترین علائم قابل مشاهده در برش عرضی شاخه‌ها از نوع قطاعی با فراوانی ٥٤ درصد و بدنبال آن علائم تغییر رنگ از انواع دایره‌ای و نقطه‌ای با فراوانی به ترتیب ٢٤ و ٢٢ درصد بودند. بر اساس بررسی‌های ریخت شناختی از تعداد ١١٥ جدایه جداسازی و خالص‌سازی شده، ١٧ گونه قارچی به قرار زیر:

*Collophora hispanica*، *C. chrysosperma*، *Truncatella angustata*، *Beauveria bassiana*، *Acrostalagmus luteoalbus*، *Quambalaria* sp.، *Clonostachys rosea*، *Fusarium proliferatum* F.، *acuminatum*، *F. torulosum*، *F. solani*، *F. oxysporum*، *avenaceum*، *Paecilomyces variotii*، *Trichothecium roseum*، *Phoma* sp و *Phellinus* sp. شناسایی شدند.

از بین ١١٥ جدایه قارچی، *C. hispanica* با فراوانی ٦١/٧٣ درصد بیشترین فراوانی عوامل قارچی مرتبط با بیماری‌های تنه درختان بادام را به خود اختصاص داده بود و سایر عوامل قارچی به ترتیب *C. chrysosperma* (٦/٠٨ درصد)، *P. variotii*، *T. roseum* (٥/٢١ درصد)، *Quambalaria* sp. (٤/٣٤ درصد)، *Phellinus* sp. و *F. proliferatum* (٣/٤٧ درصد)، *C. rosea*، *F. oxysporum* (١/٧٣ درصد)، *B. bassiana*، *F. torulosum*، *F .acuminatum*، *F. solani*، *A.luteoalbus*، *F. avenaceum*، *Phoma* sp. و *T. angustata* (٠/٨٦درصد) بودند که به عنوان عوامل قارچی همراه جداسازی شدند.

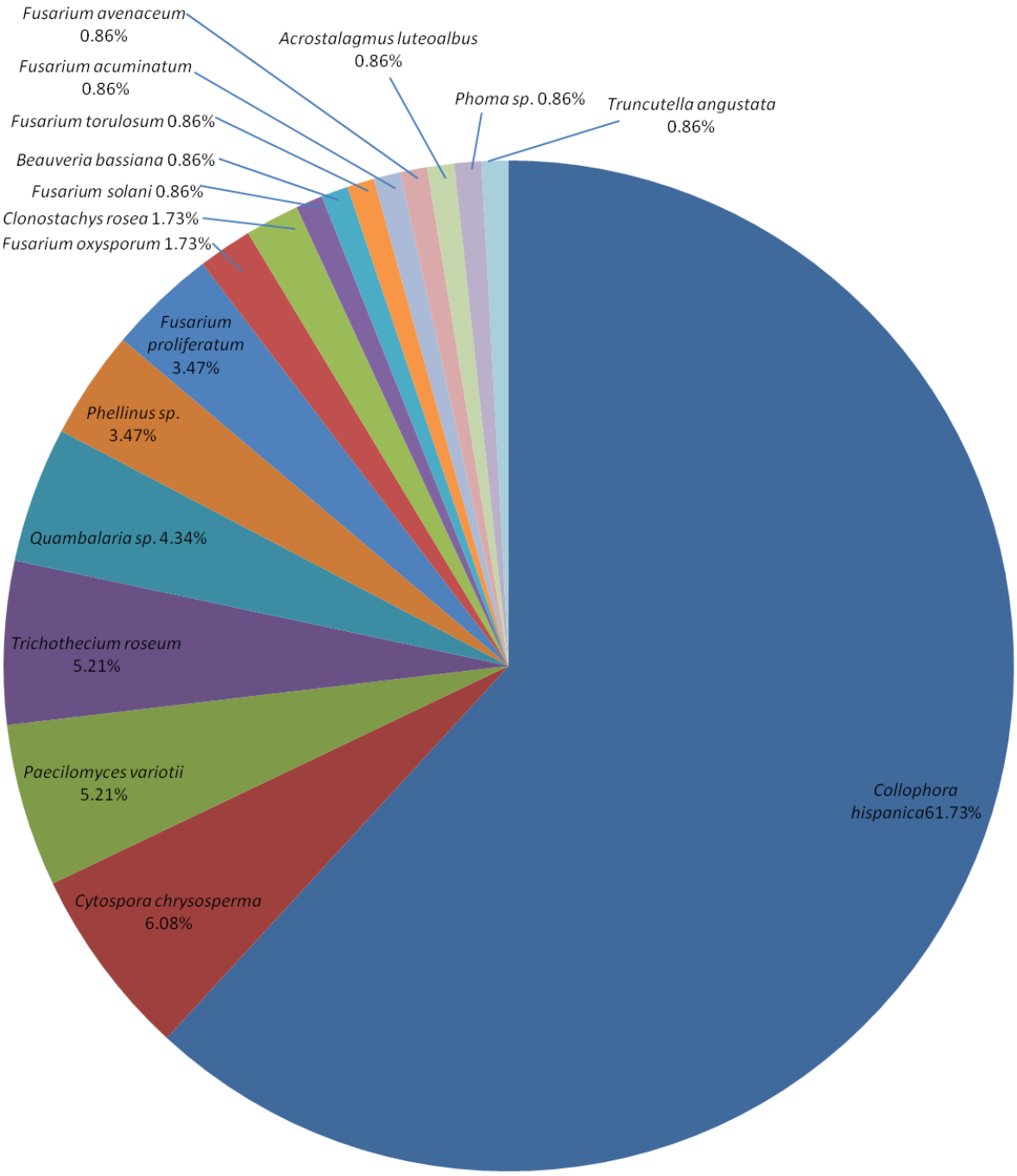
[1]Circular
[2]Sectorial
[3]Blackspot

***Collophora hispanica* D. Gramaje, J. Armengol & Damm**

**مشخصات ریخت‌شناختی**: این گونه بسیار کند رشد بوده و قطر کلنی بعد از ۱٤ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در شرایط تاریکی روی محیط کشت PDA و MEA به ۱/۳–۰/۷ سانتی متر رسید. پرگنه تخت با میسلیوم‌های هوایی کم تا نسبتا زیاد، سطح پرگنه مرطوب و دارای حاشیه صاف بود. رنگ پرگنه سفید تا قرمز تیره بود و رنگدانه‌های قرمز در محیط کشت به فراوانی تولید شد. هیف‌ها به رنگ روشن، منشعب و به عرض ۳/۵–۱ میکرومتر بودند. تشکیل کلامیدوسپور مشاهد نشد. کنیدیوفورها بر روی هیف به صورت کاهش یافته به سلول کنیدی‌زا، شفاف تا نسبتا قرمز رنگ، دیواره‌دار و منشعب بودند. سلولهای کنیدی‌زا به صورت انتروبلاستیک، شفاف تا متمایل به قرمز و با دیواره نازک، سیلندری تا آمپولی شکل و به صورت انتهایی یا بین ریسه‌ای تشکیل شدند. اندازه سلولهای کنیدی‌زا ۳–۱×۵–۲ میکرومتر بود. کنیدی‌ها بر روی هیف و یا به صورت اندوکنیدی در داخل هیف تولید شدند. کنیدی زایی به شیوه میکروسیکلیک در مواردی مشاهده شد. کنیدی‌ها شفاف یا متمایل به قرمز بوده و در اشکال و اندازه‌های مختلف به صورت تک سلولی، سیلندری شکل و گاهی تخم مرغی تا اندکی خمیده و در اندازه (۲–) ۱/۵(–۱) × (٦/۵–)۵–۳ میکرومتر بودند (شکل ۸). مشخصات ریخت شناختی این گونه با توصیف ارایه شده توسط گراماخه و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت داشت. هویت جدایه‌های این گونه با استفاده از توالی ناحیه ITS-rDNA جدایه‌های منتخب تایید گردید. در درخت فیلوژنتیک ترسیم شده بر اساس توالی‌های نوکلئوتیدی ناحیه ITS، جدایه‌های مورد مطالعه در این تحقیق با دیگر جدایه‌های گونه *C. hispanica* موجود در بانک‌ژن در یک خوشه قرار گرفتند (شکل ۹). جدایه‌های این گونه اغلب از علایم قهوه‌ای شدگی آوندی دایره‌ای شکل جداسازی گردیدند (شکل ۱۰).

***Quambalaria* sp. (Hektoen & Perkins 1900)**

**مشخصات ریخت‌شناختی**: قطر کلنی بعد از ۱۰ روز نگهداری روی محیط کشت PDA و MEA در دمای ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد به ۲/۵–۰/۵ سانتی‌متر رسید. رنگ کلنی سفید مایل به خاکستری بود. کنیدیوفورها غیر متمایز از هیف‌های رویشی، سلول‌های کنیدی‌زا به صورت انتهایی و یا بین‌ریسه‌ای، دندانه‌دار و گسترش به شیوه سیمپودیال، به طول ٤۰–۱۰ میکرومتر و به عرض ۱/۵–۰/۷ میکرومتر بودند. کنیدی‌ها غالبا به اشکال تخم‌مرغی و یا گلابی شکل بوده و به رنگ شفاف و یا اندکی رنگدانه‌دار و در اندازه‌های ۲/۵–۱/۵×۸–۲ میکرومتر می‌باشند. علاوه بر این بسیاری از جدایه‌ها تولید نوع دیگری از کنیدی می‌کنند که دارای دیواره ضخیم به رنگ قهوه‌ای تیره بوده و غالبا به صورت انفرادی بر روی دندانه‌های کوتاه در روی هیف‌های رشدی به صورت کناری تولید می‌شوند. اندازه کنیدی‌ها ۳/۵–۲×٦–۲ میکرومتر بودند (شکل ۱۱). کنیدی‌زایی به شیوه میکروسیکلیک در مواردی مشاهده شد. توالی ناحیه ITS برای جدایه‌های منتخب این گونه تشابه بالایی (۱۰۰–۹۸ درصد) با گونه‌های جنس *Quambalaria* موجود در بانک ژن نشان داد. با توجه به همپوشانی بالا بین ویژگی‌های ریخت شناختی این جدایه ها با دیگر گونه‌های این جنس، شناسایی این جدایه‌ها در سطح گونه میسر نگردید.

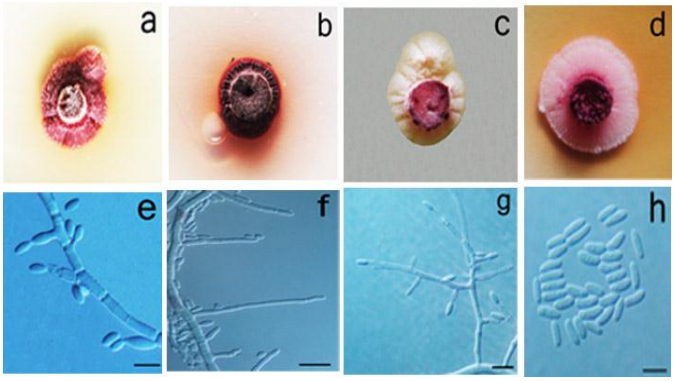



شکل ۷- نمودار درصد فراوانی گروه‌های قارچی همراه با بیماری زوال تنه درختان بادام در استان آذربایجان‌شرقی.

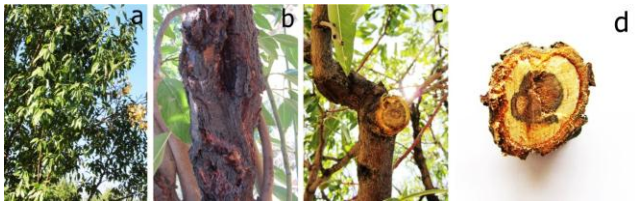
جدول ۱- ویژگی‌های ریخت‌شناختی گونه‌های رایج قارچی همراه با بیماری‌های تنه درختان بادام در استان آذربایجان‌شرقی.

| نام جدایه قارچی | مشخصات پرگنه | مشخصات کنیدیوفور | کنیدی |
|---|---|---|---|
| ***Paecilomyces varriotii* Bainier 1907** | حالت پودری و به رنگ سبز طلایی. | فیالیدها منفرد، ورتیسیلیت و در قسمت پایه سیلندری شکل و یا فلاسکی شکل و در قسمت نوک باریک و بلند. | کنیدی‌ها تک سلولی در زنجیره‌های طولانی، شکل آنها تخم مرغی تا دوکی شکل به رنگ شفاف تا زرد است که در نوک فیالیدها تشکیل می‌شوند. |
| ***Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.1912** | سفید و به حالت پودری با کنیدی-های فراوان. | سلولهای کنیدی‌زا غالبا به صورت خوشه‌ای متراکم با پایه آمپولی شکل | کنیدی‌ها کروی، شفاف و بدون دیواره. |
| ***Trichothecium roseum* (Pers. :Fr) Link1809** | کلنی به رنگ صورتی و متشکل از کنیدی‌های پودری . | کنیدیوفورها به صورت راست و مستقیم، دیواره‌دار، شفاف تا صورتی کمرنگ. | کنیدی‌ها دو سلولی، سلول بالایی کنیدی‌ها غالبا بزرگتر، شفاف با دیواره نازک تا ضخیم. |
| ***Acrostalagmus luteoalbus* (Link :.Fr.) W.Gams *et al*. 2005** | بافت کلنی مخملی و به رنگ آجری، نارنجی تا نارنجی مایل به قهوه‌ای. | کنیدیوفورها با انشعابات ورتیسیلیت، متراکم، راست و به رنگ نارنجی- قهوه‌ای. | کنیدی‌ها بیضی شکل، رنگدانه‌دار و به صورت مجتمع. |
| ***Clonostachys rose*a (Link: Fr.) Schroers, Samuels, seifert & WGams1999** | کلنی به حالت صاف و به رنگ زرد لیمویی. | کنیدیوفورها **Verticillium-Like** و **Penicillate** . | کنیدی‌ها به اشکال گرد و بیضی. |
| ***Fusarium proliferatum* (Matsushima) Nirenberg** | به رنگ بنفش و با میسلیوم‌های هوایی فراوان. | کنیدیوفورها شفاف و با سلول‌های کنیدی‌زای فیالیدیک (منو و پلی-فیالید). | بدون ماکروکنیدی و کلامیدوسپور، میکروکنیدی‌ها به‌صورت چماقی شکل با پایه تخت یا گلابی شکل و به صورت زنجیری و گاهی در سر-های کاذب. |
| ***Fusarium acuminatum* (Ellis & Everhart)** | میسلیوم سفید رنگ متراکم و گاها کرکدار با رنگدانه‌های قرمز. | سلول‌های کنیدی‌زا منوفیالید. | ماکروکنیدی‌ها گاهی ٤-۳ بندی دارای انحنای ملایم و یکنواخت با دیواره ضخیم و سلول پایه پاشنه‌ای شکل و سلول انتهایی باریک کشیده و میکروکنیدی‌ها به صورت دوکی یا قلوه‌ای. |
| ***Fusarium torulosum* (Berkeley & Curtis) Nirenberg** | سطح کلنی کرکدار و به رنگ سفید مایل به نارنجی و دارای زیر لایه- | سلول‌های کنیدی‌زا منوفیالید استوانه‌ای تا کمی بشکه‌ای. | ماکروکنیدی‌ها هلالی شکل با یک سلول پایه‌ای مشخص و سلول |

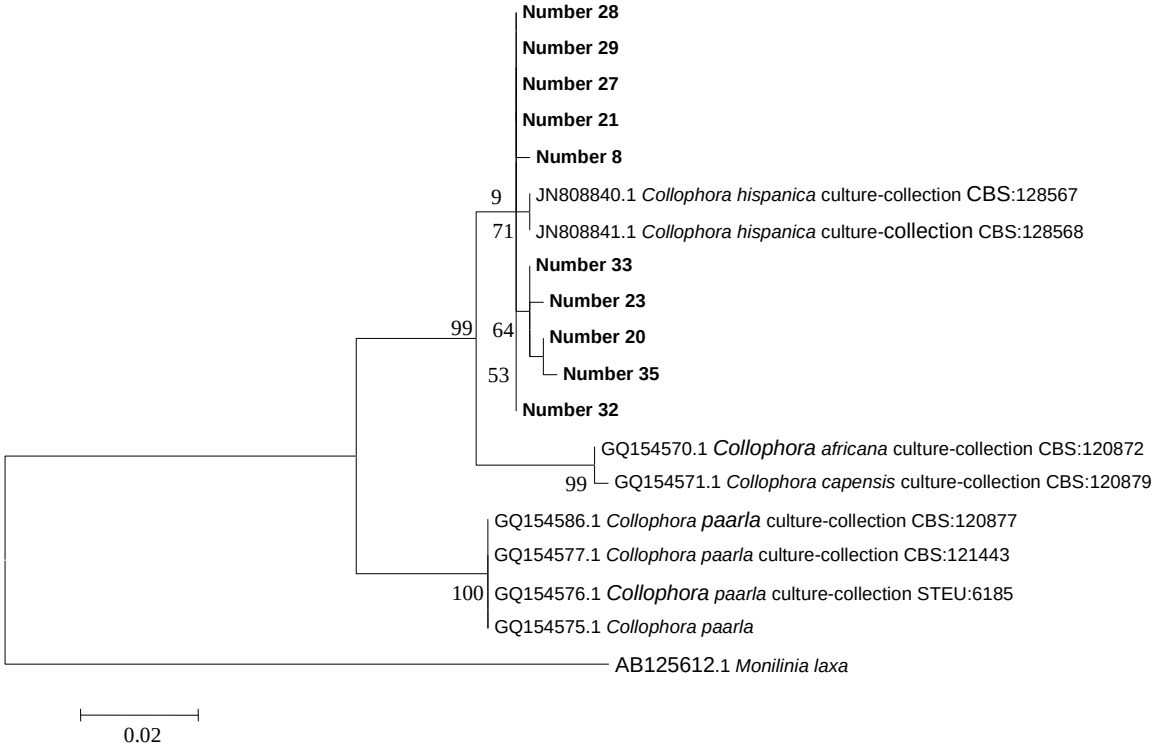
| | | | |
|---|---|---|---|
| | های میسلیومی یاقوتی رنگ با کرک‌های گل سرخی. | | انتهایی تیز و کلامیدوسپورها به صورت زنجیری، میکروکنیدی‌های تخم مرغی. |
| ***Fusarium solani* (Martius) Appel & Wollenwebwr emend. Synder & Hansen** | کلنی معمولا سفید تا کرم رنگ با میسلیوم‌های هوایی کم. | منوفیالیدهای بلند. | ماکروکنیدی‌ها نسبتا کلفت راست تا کمی خمیده، با سلول پایه پاشنه‌ای شکل و سلول انتهایی گرد و میکرو-کنیدی‌ها به اشکال مختلفی همچون تخم مرغی، سوسیسی یا قلوه‌ای شکل یک یا دو سلولی. |
| ***Fusarium avenaceum* (Fries) Saccardo** | روی محیط کشت دارای میسلیوم فراوان و رنگ آن از سفید تا زرد روشن و خاکستری تا قهوه‌ای. | سلول‌های کنیدی‌زا منوفیالید و پلی فیالید. | ماکروکنیدی‌های باریک و بلند و مستقیم تا کمی انحنادار، سلول پایه معمولا فرورفته و گاهی پاشنه‌ای شکل و سلول انتهایی کشیده و باریک تا تیز و گاهی خمیده ،میکروکنیدی‌ها دوکی شکل و از نظر اندازه متنوع. |
| ***Fusarium oxysporum* (Schlechatenahl emend. Snyder & Hansen)** | میسلیوم‌های کرکدار به رنگ سفید تا بنفش کمرنگ و تولید رنگدانه بنفش کمرنگ تا تیره کهربایی در محیط کشت. | سلول‌های کنیدی‌زا به صورت منوفیالیدهای کوتاه. | ماکروکنیدی‌ها با طول کوتاه تا متوسط مستقیم تا حدی خمیده، نسبتا باریک و با دیواره نازک که در آنها سلول پایه پاشنه‌ای شکل و سلول انتهایی نوک تیز و انحنادار و در این گونه میکروکنیدی‌ها تخم-مرغی، بیضی یا قلوه‌ای شکل و معمولا یک سلولی روی سرهای دروغین. |
| ***Cytospora chrysosperma* (Pers.) Fr. (Fide Donk 1964)** | سطح کلنی سفید مایل به زرد بوده و تشکیل پیکنیدها همراه با ترشحات فتیله‌ای نارنجی. | سلول‌های کنیدی‌زا انتروبلاستیک، فیالیدیک، نیمه استوانه‌ای. | کنیدی‌ها شفاف، بدون قطرات چربی، طویل تا بیضی، بدون دیواره عرضی. |



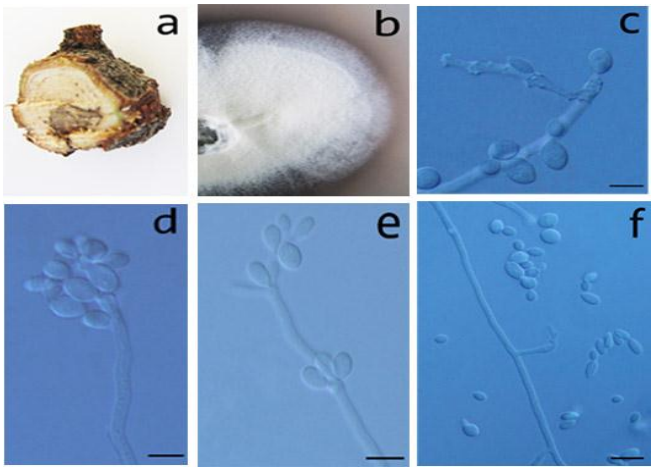

شکل ۸- ***Collophora hispanica***: **c,b,a**: کلنی بعد از ۱٤ روز روی محیط کشت **PDA**، **d**: کلنی بعد از ۱٤ روز روی محیط کشت **MEA**، **g.f,e**: سلول کنیدی‌زا، **h**: کنیدی، مقیاس= ۱۰ میکرومتر.




شکل ۱۰- علائم ظاهری و گرفتگی آوندی در برش عرضی چوب درخت آلوده به قارچ ***Collophora hispanica***: **a**: زرد شدن و خشکیدگی یک طرفه، **b**: شانکر روی تنه، **d,c**: فرم گرفتگی آوندی در برش عرضی.




شکل ۹- تبارنمای ترسیم شده بر اساس توالی‌های نوکلئوتیدی ناحیه **ITS-rDNA** جدایه‌های ***Collophora*** به روش پیوست همسایه. مقیاس نشان دهنده ۰/۰۲ تغییر در اسیدهای نوکلئیک در ناحیه **ITS-rDNA** بین جدایه‌های مختلف می‌باشد. گونه ***Monilinia laxa*** (**AB125612.1**) به عنوان گروه خارجی تعیین گردید.

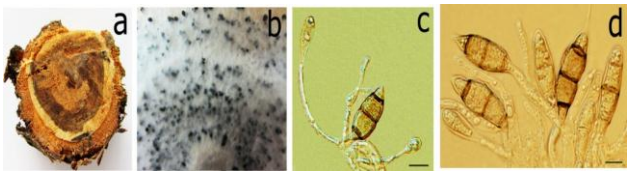



شکل ۱۱- ***Quambalaria* sp.** **a**: فرم گرفتگی آوندی در برش عرضی چوب، **b**: کلنی بعد از ۱۰ روز روی محیط کشت **PDA**، **e,d,c**: سلول کنیدی‌زا و کنیدی، **f**: کنیدی‌های میکروسیکلیک، مقیاس= ۱۰ میکرومتر.

***Truncatella angustata* (Pers:Link) Hughs, Jam. Bott J. Hughes, Can. J. Bott**

**مشخصات ریخت شناختی**: کلنی دارای رشد سریعی بوده و قطر آن بعد از هفت روز نگهداری روی محیط کشت PDA در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به چهار سانتی‌متر می‌رسید. کلنی تخت و به رنگ سفید تا قهوه‌ای و دارای بافت پنبه‌ای تا پشمی بود. آسروول-های تیره به اندازه ۱۰۰۰–۵۰۰ میکرومتر در مرکز کلنی بعد از هفت روز تشکیل شدند. کنیدیوفورها شفاف و به اندازه ٤/٥–٢ × ٢٦–٥/ ٢٤میکرومتربودند. سلول‌های کنیدی‌زا آنلیدیک و شفاف و دارای دیواره صاف، ادغام شده و سیلندری شکل بودند. کنیدی‌ها دوکی شکل، راست تا اندکی خمیده با سه دیواره به اندازه ۸– ۷ × ۲۰–۱۸ میکرومتر و سلول میانی به رنگ قهوه‌ای تیره و به طول ١٤–١٢/٥ میکرومتربود. سلول پایه و سلول انتهایی اغلب به رنگ روشن و سلول انتهایی دارای زوائد رشته‌ای و انعطاف پذیر به طول ۲۵ میکرومتر بود. تعداد این زوائد در مواردی به دو و یا سه عدد نیز می رسید. سلول پایه اغلب فاقد هر گونه زائده‌ای است (شکل ۱۲). ویژگی‌های ریخت شناختی جدایه‌های این گونه با توصیف ارایه شده توسط سرگوا و همکاران (۲۰۰۵) مطابقت داشت.

جدایه‌های این گونه اغلب از علایم قهوه‌ای شدگی آوندی دایره‌ای شکل جداسازی گردیدند (شکل ۱۲).




شکل ۱۲- ***Truncatella angustata***: **a**: فرم گرفتگی آوندی در برش عرضی چوب، **b**: کلنی بعد از هفت روز روی محیط کشت **PDA**، **d,c**: سلول کنیدی‌زا و کنیدی، مقیاس= ۱۰ میکرومتر.

## بحث

در این بررسی عوامل قارچی مرتبط با بیماری‌های تنه درختان بادام مورد شناسایی قرار گرفت. بیماری-های تنه یکی از عوامل مهم در نابودی باغات بادام در استان آذربایجان شرقی به شمار می‌روند. علیرغم شیوع این بیماری در اغلب باغات بادام منطقه، توجه اندکی به این بیماری‌ها معطوف گردیده است و عوامل قارچی دخیل در ایجاد بیماری، ناشناخته باقی مانده‌اند. با کشت نمونه‌های جمع آوری شده از درختان بادام با علایم بیماری‌های تنه، چندین گروه از عوامل قارچی جداسازی و شناسایی شدند که در بین گروههای قارچی جداسازی شده، جنس قارچی *Collophora* بیشترین فراوانی را به خود اختصاص داد.

جنس *Collophora* برای اولین بار توسط دام و همکاران (۲۰۱۰) از روی درختان میوه هسته دار با علایم شانکر و زوال در آفریقای جنوبی توصیف گردید. تاکنون پنج گونه *Collophora* به نام‌های *C. rubra*، *C. paarla*، *C. capensis*، *C. pallida* و *C. hispanica* از بافت‌های آوندی درختان میوه هسته-دار با علایم شانکر و زوال توصیف شده‌اند (دام و همکاران، ۲۰۱۰). گونه *C.hispanica* اخیرا از درختان بادام با علایم شانکر و زوال در اسپانیا گزاش شده است (گراماخه و همکاران، ۲۰۱۰). در تحقیق حاضر گونه *C.hispanica* با درصد فراوانی بالا (۶۱/۷۳ درصد) از درختان بادام با علایم بیماری‌های تنه جداسازی شد. هویت جدایه‌های این گونه با استفاده از داده‌های توالی ناحیه ITS تایید گردید. اینکه این گونه در ایجاد علایم بیماری دخیل می‌باشد یا نه نیاز به اجرای آزمون‌های بیماری‌زایی دارد.

گونه‌های جنس *Fusarium* با فراوانی ۸/۵۷ درصد دومین گروه قارچی از نظر درصد فراوانی بودند. در تحقیق حاضر شش گونه *Fusarium* شامل *F. proliferatum*، *F. oxysporum*، *F. solani*، *F. acuminatum*، *F. torulosum* و *F. avenaceum* از درختان بادام جداسازی و شناسایی گردیدند. در بین گونه‌های *Fusarium*، *F. proliferatum* بیشترین فراوانی (۳/٤) را به خود اختصاص داد. بیماری‌های ایجاد شده توسط این گونه شامل بلایت، سرخشکیدگی و پوسیدگی می‌باشد و طیف گسترده‌ای از میزبانان را از جمله مارچوبه، انجیر، ذرت، پیاز، نخل خرما، سوزنی برگ و گندم را مورد حمله قرار می‌دهد (لزلی و سومرل، ۲۰۰٦). در طی این تحقیق، *F. proliferatum* به عنوان یکی از عوامل قارچی همراه با زوال تنه درختان بادام از استان آذربایجان‌شرقی جداسازی شد. هویت این گونه براساس نتایج حاصل از توالی ناحیه ITS تایید گردید. *F. avenaceum* و *F. acuminatum* از جمله قارچ‌های همه‌جازی است که بیشتر در خاک به صورت ساپروفیت می‌باشند و باعث ایجاد بیماری‌های متعددی از جمله بلایت و پژمردگی شده و بر روی درختان میوه هسته‌دار باعث ایجاد زخم و پوسیدگی ریشه و طوقه می‌شوند. این دو گونه از روی درختان بادام در کالیفرنیا گزارش شده‌اند (مرک و همکاران، ۲۰۱۳). هویت این دو گونه بر اساس نتایج حاصل از توالی ناحیه ITS تایید گردید. *F. solani* همه‌جازی بوده و در طیف گسترده‌ای از بستره ها یافت می‌شود و اغلب در خاک بوده و به عنوان پاتوژن شمار زیادی از گیاهان از جمله درختان می-باشد و باعث بروز پدیده شانکر و سرخشکیدگی در درختان می‌شود. در طی این تحقیق این گونه از روی ریشه بادام جداسازی شد و هویت آن بر اساس نتایج حاصل از توالی ناحیه ITS تایید گردید. *F. oxysporum* به عنوان ساپروفیت در خاک یافت می‌شود و باعث پژمردگی آوندی، بوته‌میری و پوسیدگی ریشه و طوقه در بسیاری از گونه‌های گیاهی می‌شود (لزلی و همکاران، ۲۰۰٦). این گونه نیز از روی ریشه بادام جدا-سازی و هویت آن بر اساس توالی ناحیه ITS تایید گردید.

گونه *C. chrysosperma* با فراوانی ٦/۸ درصدی از نظر فراوانی بعد از گونه های جنس *Fusarium* در رتبه سوم قرار گرفت. شانکر سیتوسپورائی یک مشکل عمده گیاهان چوبی بازدانه و نهاندانه در جهان می-باشد. گونه‌های *Cytospora* اغلب باعث آلودگی گیاهان چوبی می‌شوند و عموما به عنوان پارازیت اختیاری زخم مطرح می‌باشند که درختان ضعیف را مورد حمله قرار می‌دهند ولی گاها می‌توانند به عنوان ساپروفیت مستقیما روی درختان مرده زندگی کنند (آدامز و همکاران ۲۰۰۵). گونه *C. chrysosperma* دارای دامنه میزبانی وسیع بوده و در ایران از روی بادام، آلو، سیب، گردو، زیتون، توت و درختان غیر مثمر گزارش شده است (فتوحی فر و همکاران ۲۰۱۰، مهرابی و همکاران ۲۰۱۱، دخانچی و همکاران ۱۳۹۲).

جنس *Truncatella* متعلق به قارچ‌های *Pestalotioid* می‌باشد (لی و همکاران ۲۰۰٦). گونه

های این جنس به عنوان پاتوژن و یا اندوفیت گیاهان مطرح می‌باشند. *T. angustata* به‌عنوان عامل شانکر و پیچیدگی شاخه‌ها و سرخشکیدگی از روی درختان زغال اخته در شیلی گزارش شده است (گوبا، ۱۹۳۲). گونه *T. angustata* در ایران از روی انگور و زیتون توسط ارزنلو و همکاران (۲۰۱۲ و ۲۰۱۳) گزارش شد ه است و در طی این تحقیق از روی درختان بادام جدا-سازی و شناسایی گردید.

گونه‌های جنس *Quambalaria* عامل ایجاد شانکر و بلایت ساقه، شکوفه و برگ در گیاهان تیره میرتاسه شامل اوکالیپتوس و کوریمبیا می‌باشند (ژو و همکاران، ۲۰۰۷، پرز و همکاران، ۲۰۰۸). تاکنون شش گونه از این جنس به نام‌های *Q. coyrecup*، *Q. cyanescens*، *Q. pitereka*، *Q. pusilla*، *Q. simpsonii* و *Q. cyanescens* توصیف شده است (پرز و همکاران، ۲۰۰۸). *Quambalaria* یک جنس بازیدیومیستی است که در رده اگزوبازیدیومیست‌ها و راسته میکروستروماتال واقع شده است (دی بیر و همکاران، ۲۰۰۶). ویژگی‌های ریخت‌شناختی جدایه‌های *Quambalaria* که در این بررسی از درختان بادام با علایم قهوه‌ای شدن آوندی جداسازی گردیدند با خصوصیات ریخت‌شناختی دیگر گونه‌های این جنس همپوشانی داشت. هویت جدایه‌ها در سطح جنس با استفاده از داده‌های توالی ناحیه ITS تایید گردید.

بنابراین شناسایی جدایه‌ها در سطح گونه نیازمند بررسی‌های تکمیلی می‌باشد. با وجود اینکه بیماری-زایی دیگر گونه‌های این جنس روی گیاهان تیره میرتاسه به اثبات رسیده است، اثبات بیماری‌زایی جدایه‌های بدست آمده از بادام نیاز به اجرای اصول کخ دارد.

سایر گونه‌های قارچی که با فراوانی کمتر در این بررسی جداسازی‌شدند شامل *B. bassiana*، *A. luteoalbus*، *C. rosea*، *P. variotii*، *T. roseum*، *Phoma* sp. و *Phellinus* sp. می‌باشند.

به طور کلی نتایج این بررسی نشان داد که گروه-های قارچی متنوعی روی درختان بادام همراه با علائم بیماری های تنه و سرخشکیدگی حضور دارند که بررسی نقش هر یک از گروه‌ها در ایجاد بیماری نیاز به اجرای آزمون‌های بیماری‌زایی دارد. با شناسایی گونه‌های قارچی بیماری‌زا، امکان اعمال راه‌کارهای مناسب برای مدیریت بیماری‌های تنه درختان بادام فراهم خواهد گردید.

**سپاس‌گزاری**

نویسندگان مقاله مراتب سپاس و قدردانی خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تبریز به خاطر تامین بودجه لازم برای انجام این پژوهش ابراز می نمایند.

**منابع**

ارشاد ج، ۱۳۸۸، قارچ‌های ایران. ویراست سوم. انتشارات موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، ۵۳۱ صفحه.

دیزجی ا، ذاکر م، اسمعیل زاده حسینی س ع، حیدریان ا و ارشاد ج، ۱۳۸۵، عوامل قارچی همراه ریشه و طوقه درختان بادام رو به زوال در استان های آذربایجان شرقی، سمنان، یزد و چهارمحال و بختیاری. پژوهش کشاورزی آب، خاک و گیاه در کشاورزی، جلد ششم، شماره ۱. صفحه‌های ۱ تا ۱۴.

دخانچی ه، ارزنلو م و بابای اهری ا. ۱۳۹۲، شناسایی قارچ‌های همراه با بیماری‌های تنه درختان میوه هسته‌دار در استان‌های آذربایجان شرقی و غربی، پژوهش های کاربردی در گیاهپزشکی، جلد دوم، شماره ۲. صفحه‌های ۲۹ تا ۴۵.

Adams GC, Wingfield MJ, Common R and Roux J, 2005. Phylogenetic relationships and morphology of *Cytospora* species and related teleomorphs (Ascomycota, Diaporthales, Valsaceae) from Eucalyptus. Studies in Mycology 52: 1–142.

Arzanlou M, Torbati M and Jafary H, 2012. Fruit rot of olive (*Olea europaea*) caused by *Truncatella angustata*. Plant Pathology & Quarantine, 2: 117–123.

Arzanlou M, Narmani A, Moshari S, Khodaei S and Babai-Ahari A, 2013. *Truncatella angustata* associated with grapevine trunk disease in northern Iran. Archives of Phytopathology and Plant Protection 46: 1168–1181.

Damm U, Fourie PH and Crous PW, 2010. *Coniochaeta* (*Lecythophora*), *Collophora* gen. nov. and *Phaeomoniella* species associated with wood necroses of Prunus trees. Persoonia 24: 6080.

De Beer WZ, Begerow D, Bauer R, Pegg GS, Crous PW and Wingfield MJ, 2006. Phylogeny of Quambalariaceae fam. nov. including important Eucalyptus pathogens in South Africa and Australia. Studies in Mycology 55: 289–298.

Eskandari S and Majidazar M, 2009. Introduction of new hybrid varieties of almond (*Prunus amygdalus* Batsch) for almond producing regions of Iran. World Applied Sciences Journal 6 (3): 323–330.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2008. FAO Statistical Databases. {Hyperlink http://www.fao.org/}.

Fotouhifar KhB, Hedjaroude GA and Leuchtmann A, 2010. ITS rDNA phylogeny of Iranian strains of *Cytospora* and associated teleomorphs. Mycologia 102:1369–1382.

Gramaje D, Agusti-Brisach C, Peraz-Sierra A, Moralejo E, Olmo D, Mostert L, Damm U and Armengol J, 2012. Fungal trunk pathogens associated with wood decay of almond trees on Mallorca (Spain). Persoonia 28: 1–13.

Guba, EF, 1932. Monograph of Genus *Pestalotia*. Mycologia 24:355–397.

Lee S, Crous PW and Wingfield MJ, 2006. Pestalotioid fungi from Restionaceae in the Cape Floral Kingdom. Studies in Mycology 55: 175–187.

Leslie JF and Summerell BA, 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Blackwell. pp. 388.

Marek S, Yaghmour MA and Bostock RM, 2013. *Fusarium* spp., *Cylindrocarpon* spp., and environmental stress in the etiology of a canker disease of cold-stored fruit and nut tree seedlings in California. Plant Disease 97: 259–270.

Mehrabi M, Mohammadi Goltapeh E and Fotouhifar KB, 2011. Studies on Cytospora canker disease of apple trees in Semirom region of Iran. Journal of Agricultural Technology 7: 967–982.

Moller EM, Bahnweg G and Geiger HH, 1992. A simple and efficient protocol for isolation of high molecular weight DNA from filamentous fungi, fruit bodies, and infected plant tissues. Nuclear Acid Research 20: 6115–6116.

Pérez CA, de Beer ZW, Altier NA, Wingfield MJ and Blanchette RA, 2008. Discovery of the eucalypt pathogen *Quambalaria eucalypti* infecting a non-Eucalyptus host in Uruguay. Australasian Plant Pathology 37:600–604.

Sergeeva V, Priest M and Nair NG, 2005. Species of *Pestalotiopsis* and related genera occurring on grapevines in Australia. Australasian Plant Pathology 34: 255–258.

Zhou X, De Beer W, Xie Y, Pegg GS and Wingfield MJ, 2007. DNA-based identification of *Quambalaria pitereka* causing severe leaf blight of *Corymbia citriodora* in China. Fungal Diversity 25: 245–54.

# Identification of the Fungal Agents Associated with Almond Trunk Diseases in East Azerbeijan Province

**M Baradaran Baghery[1], M Arzanlou[2*] and A Babai-Ahari[2]**

[1]Former MSc Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
[2]Associate Professor and Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran.
*Corresponding author: **arzanlou@hotmail.com**

Received: 11 Jun 2014 Accepted: 6 Sep 2014

**Abstract**

Trunk diseases are among the important diseases of almond trees, considered as a potential threat for the almond cultivation and production. Given the incidence of the trunk diseases on almond trees in the orchards of East Azarbaijan province, the identity of fungal species associated with disease symptoms mainly remain unknown. In this study, the fungal species associated with the trunk diseases on almond trees in East Azerbaijan province were characterized using morphological and molecular data. A total number of 115 fungal isolates were recovered from diseased samples showing canker and wood decay and discoloration symptoms. The identity of the fungal species were determined by using both morphological and sequence data of the ITS-rDNA region. The results revealed *Collophora hispanica* as the dominant species amongst the fungal groups associated with almond trunk diseases in this region with the isolation frequency of 61.73 percent. In addition fungal species including *Cytospora chrysosperma*, *Truncatella angustata*, *Beauveria bassiana*, *Acrostalagmus luteoalbus*, *Quambalaria* sp., *Clonostachys rosea*, *Fusarium proliferatum*, *F. acuminatum*, *F. torulosum*, *F. solani*, *F. avenaceum*, *F. oxysporum*, *Paecilomyces variotii*, *Trichothecium roseum*, *Phellinus* sp. and *Phoma* sp. were isolated with lower frequencies. All of the species, except, *C. chrysosperma*, *P. variotii*, *C. rosea*, *T. roseum* and *Phellinus* sp. represent new records on almond for Iran. Additinaly, *T. angustata*, *F. torulosum*, *F. proliferatum* and *Quambalaria* sp. are newly reported on almond all over the world. With the identification of fungal species associated with almond tree decline in this region it will be possible to evaluate their pathogenicity on almond and eventually practice suitable management strategies for this complex disease.

**Keywords:** Almond, Canker, *Collophora*, *Botryosphaeria*, East Azarbaijan.