نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۴، شماره ۱، بهار ۱۳۸۹، ص ۱۱۸-۱۱۵

Journal of Plant Protection
Vol. 24, No. 1, Spring 2010, p. 115-118

گزارش کوتاه علمی

بررسی عوامل قارچی مولد بیماری غربالی درختان میوه هسته دار در استان خراسان رضوی

اعظم یوسفی[1*] - ناصر پنجه که[2] - محمد حاجیان شهری[3] - محمد سالاری[4] - ماهرخ فلاحتی رستگار[5]

تاریخ دریافت: ۸۷/۸/۱
تاریخ پذیرش: ۸۹/۲/۲۲

چکیده

به منظور بررسی عوامل قارچی مولد بیماری غربالی درختان میوه هسته دار در استان خراسان رضوی در طی سالهای ۸۷-۱۳۸۶، قارچهای *Wilsonomyces*، *Ulocladium*، *Altenaria*، *Curvularia*، *Fusarium*، *Nigrospora*، *Drechslera*، *Penicillium*، *Stemphilium* و *Cladosporium* از برگ ، میوه و سرشاخه های آلوده درختان هلو، زردآلو، بادام، گیلاس، آلبالو و آلو روی محیط های غذایی PDA، MEA و WA جداسازی شدند. قارچهایی که بیشترین میزان جداسازی را داشتند، خالص سازی و اثبات بیماریزایی آنها در شرایط نهالستان و آزمایشگاه صورت گرفت. نتایج نشان داد که گونه های قارچی *A. alternata* (Fr.)Keissler، *W. carpophilus* (Lev.) Adaskaveg, Ogawa & Butler و *U. atrum* Preuss به ترتیب اهمیت بیشتری در ایجاد بیماری غربالی درختان میوه هسته دار در استان خراسان رضوی دارند.

واژه‌های کلیدی: بیماری غربالی، درختان میوه هسته دار، عامل بیماری، استان خراسان رضوی

مقدمه

مشبک شدن برگ و پیدایش لکه‌های نکروزه در درختان میوه هسته دار در اثر بعضی قارچها، باکتریها و ویروس‌ها ایجاد می‌شود. هم چنین، عوامل دیگری مثل سفیدک پودری، بعضی آفات، عدم تعادل مواد غذایی، شرایط نامساعد خاک و آب و هوایی، صدمه حاصل از سمپاشی‌ها با ترکیبات مسی و سمیت در اثر بُر (علائم مشابه علائم‌پور باکتریایی) و بالاخره تنش‌های فیزیولوژیکی در غربالی شدن برگ‌ها دخالت دارند (۱۰و۱۳). در منابع مختلف، عوامل متعدد قارچی که با نشانه‌های غربالی بر سطح برگ همراه هستند، گزارش شده اند عبارتند از: لکه سیاه هلو ناشی از قارچ *Alternaria alternara* (۱۶ و۳۳) لکه نشانه ای برگ گونه‌های *Prunus* با عامل *Phyllosticta persicae* Sacc. (۲۲) لکه برگی گیلاس ناشی از قارچهای *Alternaria seraci* ، *Phoma pomorum* و *Blumeriella jaapii* Thuem. (۱۲و۳۰) لکه برگی سرکوسپورایی (*Cercosporsa circumscissa*) (۱۹) لکه برگی آلو ناشی از *Phyllosticta prunicola* و *Polystigma rubrum* و لکه برگی سرکوسپورایی گیلاس و آلبالو (*Cercospora cerasella*) (۲۰). با این‌حال غالب مطالعاتی که بر روی این بیماری صورت گرفته در ارتباط با قارچ *Stigmina carpophila* بوده که به عنوان عامل اصلی بیماری غربالی در سال ۱۹۹۰ توسط آداسکاویج و همکاران معرفی گردید. این قارچ بعداً به جنس جدید *Wilsonomyces carpophilus* تغییر نام یافت (۷). از آن‌جایی که نخستین گام برای مبارزه یک بیماری، شناسایی عامل یا عوامل بیماری است، لذا در این تحقیق عوامل بیماری‌زای قارچی جداسازی و شناسایی شدند و شدت بیماری‌زایی عامل یا عوامل ایجاد کننده و میزان خسارت این بیماری بر روی میزبانهای مختلف در شرایط باغی و آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفتند.

مواد و روش ها

نمونه برداری از تمام اندامهای هوایی درختان میوه هسته دار دارای علائم بیماری غربالی باغات آلوده شهرستانهای مشهد، چناران

۱، ۲ و ۴- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیاران گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
(*- نویسنده مسئول: (Email: azam_yousefi85@yahoo.com)
۳- استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، بخش تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی
۵- استاد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

Archive of SID
www.SID.ir

و نیشابور در طی سالهای ۱۳۸۶ و ۱۳۸۷ صورت گرفت. نمونه هایی از حد فاصل بافت سالم و آلوده برگ، شاخساره و میوه‌های درختان آلوده جداسازی و خالص سازی گردید. مطابق با روش شاو (۲۳) تشتک‌های پتری در شرایط تاریکی برای یک هفته و در شرایط روشنایی به مدت ۴-۶ روز به منظور اسپورزایی در دمای ۲۰-۲۲ درجه سانتیگراد قرار گرفتند.

بررسی ریخت شناسی: برای شناسایی گونه *Wilsonomyces carpophilus*، بر اساس روشهای آداسکاویچ و همکاران (۷) و الیس (۱۳) از کشتهای خالص یک هفته ای آن که در انکوباتور با دمای ۲۵°C در شرایط تاریکی، روی محیط کشتهای PDA و MEA رشد داده شده بود، استفاده شد. خصوصیات ماکروسکوپی و میکروسکوپی جدایه‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. برای بررسی خصوصیات گونه *Alternaria alternata*، کشت خالص قارچ روی محیطهای PDA و MEA تهیه گردید و مطابق با روش مندس (۱۷) در شرایط نوری-تاریکی ۱۲ساعته در دمای ۲۰-۲۲ درجه سانتیگراد قرار گرفتند و بعد از ۵-۷ روز مورد بررسی قرار گرفتند.

اثبات بیماریزایی جدایه‌های به دست آمده در شرایط باغی و آزمایشگاهی: مایه زنی در شرایط نهالستان، بر روی سر شاخه‌های جوان زردآلو شاهرودی، هلو میثوری، آلو (رقم ناشناخته)، آلبالو مجار رقم اردی، گیلاس سیاه مشهد طبق روش شاو (۲۳) با سوسپانسیون اسپور، به غلظت 10^3 و 10^4 کنیدی بر میلی لیتر انجام شد. همچنین ارقام مورد بررسی در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از روش تغییر یافته حاجیان (۶) بر روی برگ بریده ارقام درختان میوه هسته دار در داخل تشتک‌های پتری محتوی محیط PDA با سوسپانسیون قارچ مایه زنی شدند و شاهد، نیز با آب مقطر سترون مایه زنی شد. درصد آلودگی برگی در هر دو روش، در تمام ارقام اندازه گیری شد و داده‌های حاصل از آن در سطح احتمال ۵ درصد تجزیه واریانس شدند.

نتایج و بحث

در جداسازی اولیه از بافتهای بیمار دارای نشانه های غربالی، جنس‌های قارچی (۵۰ درصد) *Alternaria*، (۱۰ درصد) *Ulocladium* ، (۱۵ درصد) *Wilsonomyces*، (۷ درصد) *Cladosporium*، (۵ درصد) *Penicillium* و ٪ ۲/۵ مربوط به قارچهای *Fusaruim*، *Nigrospora*، *Drechslera* ، *Stemphylium*، *Curvularia* و تعدادی قارچهای ناشناخته (۱۰ درصد) جدا شدند. جنس‌های قارچی که بیشترین میزان جداسازی را دارا بودند، خالص سازی و اثبات بیماریزایی آنها در شرایط نهالستان و آزمایشگاه صورت گرفت.

در شناسایی گونه *W. carpophilus* از مقاله توصیفی شرح خصوصیات ماکروسکوپی و میکروسکوپی آداسکاویچ و همکاران (۷) و کتاب کلید قارچهای ناقص تالیف الیس (۱۱) استفاده شد. کلیه خصوصیات کنیدیوم و کنیدیوفور و تنوع پرگنه گونه *A. alternata* با مقالات توصیفی شرح گونه توسط سیمونز (۲۶ و ۲۸) مورد تایید قرار گرفت. همچنین، در بررسی های میکروسکوپی برای تفکیک دو جنس *Alternaria* و *Ulocladium* از یکدیگر از توصیف مقایسه ای چکاوسکی و ویسکونتی (۹) استفاده شد. مطابق با این توصیف، *Ulocladium* از *Alternaria* به واسطه داشتن شکل تخم مرغی وارونه و عدم وجود نوک (beak) متمایز شد. بررسی تنوع شکلی کنیدیوم های *Ulocladium* با توصیفات سیمونز (۲۴، ۲۵ و ۲۷) بررسی شد و گونه *U. atrum* به تایید رسید.

بیماریزایی قارچ‌های جدا شده: در شرایط باغی، درصد آلودگی برگی بعد از یک هفته اندازه گیری شد. در اثبات بیماریزایی گونه *W. carpoohilus*` لکه هایی با علائم مشخص غربالی به شکل گرد و به رنگ‌های ارغوانی تا قهوه ای مایل به زرد با حاشیه مشخص و در تعدادی موارد با تشکیل لایه جداگر، در تمام قسمتهای برگ تشکیل شد که قطر لکه‌ها در برگهای مسن، بیشتر و در برگهای جوان، محدود به لکه‌های سرسوزنی که اندازه آنها حداکثر به دو میلی‌متر می‌رسید، شد. همچنین، در مایه زنی سوسپانسیون اسپور *Ulocladium atrum* لکه هایی به صورت پراکنده که بیشتر تمرکز آنها نزدیک به رگبرگ اصلی بود به شکل گرد و برنزه رنگ متمایل به سیاه و گاهی با مرکز سفید (در ابعاد سرسوزنی) با حاشیه مشخص تشکیل شد. قطر لکه‌ها از ۶ میلی‌متر، بعد از گذشت یک هفته تجاوز نکرد. تجزیه واریانس حاصل از داده‌ها اختلاف معنی داری را در میان ارقام در اثر مایه زنی این دو قارچ نشان داد. سوسپانسیون اسپور *Alternaria alternata* بر روی ارقام مورد آزمایش، هیچ اختلاف معنی داری را نشان ندادند و در مقایسه میانگین دانکن نیز، همه میانگین‌های ارقام در یک گروه قرار گرفتند. لکه‌های بیماری ناشی از این گونه قارچی در میزبان‌های مختلف به شکل‌های گوناگون و معمولاً به قطر حداکثر ۵ میلیمتر نمایان شدند که بر روی هلو و بادام لکه‌ها برنزه رنگ و در سایر میزبان‌ها، ارغوانی تا قرمز رنگ بودند و تعدادی از لکه‌های سرسوزنی حالت غربال را پیدا کرده بودند. انجام تستهای بیماریزایی در شرایط آزمایشگاهی بر روی برگ بریده ارقام درختان میوه هسته دار، بیماریزایی قارچهای فوق را تایید کرد.

میانگین وقوع و شدت بیماری در برگ در مطالعات آزمایشگاهی و باغی، یکسان نبود و این مشخص می‌کند که شرایط محیطی مساعد برای این بیماری به دوره‌های رطوبتی طولانی نیاز دارد و همچنین، سن برگچه مورد مطالعه نیز، در این امر مؤثر است که با نتایج مطالعات درجه حرارت و رطوبت و سن برگچه توت فرنگی به وسیله نبه و همکاران (۱۸) در اثر قارچ *Phomopsis obscuros* مطابقت

Archive of SID

www.SID.ir

دارد.

گونه‌های *Alternaria* به گونه‌های خوب رشد در نواحی نیمه خشک معروف هستند (۲۱) و گزارشات متعددی از کشورهای آسیایی از بیمارگری این گونه بر طیف وسیعی از درختان میوه هسته دار همراه با علائم غربالی اشاره دارند (۱۶و۳۳) از طرفی، بیماری غربالی نیز، یک بیماری جدی در گونه‌های هسته دار در تعدادی از نواحی نیمه خشک جهان است (۸). بنابراین این تحقیق به دامنه وسیع بیماریزایی گونه *A. alternata* بر روی درختان میوه هسته دار و شرایط آب و هوایی مساعد برای بیماری مشابه با قارچ اصلی عامل غربالی (*W. carpophilus*) اشاره دارد که در اقدامات کنترلی برای این بیماری باید در نظر گرفته شود. مطالعات زیادی روی بیماری غربالی و گونه *W. carpophilus* در کشورهای خارج صورت گرفته است که تعدادی از آنها شامل بیولوژی قارچ و بیماری (۳۱)، اپیدمیولوژی (۸ و ۲۳)، بقای مایه تلقیح (۱۴)، دامنه میزبانی قارچ (۳۲)، اثرات بیماری در کاهش عملکرد بادام (۱۵) و کنترل بیماری (۲۹) می‌باشد. علیرغم اینکه، این بیماری در کشور ما نیز دارای اهمیت اقتصادی است، اما تحقیقاتی که انجام گرفته محدود تا سال ۱۳۶۵ توسط اشکان و پیغامی می‌شود (۱، ۲، ۳، ۴ و ۵) و از آن تاریخ به بعد، به اهمیت بیماری توجه زیادی نشده است. تحقیقی که منحصراً به عوامل قارچی مولد بیماری غربالی بپردازد در داخل و خارج از کشور صورت نگرفته است. شناخت صحیح از عوامل مولد بیماری، کاربرد قارچکش‌ها را در سال برای کنترل بیماری کاهش می‌دهد. در این تحقیق، گونه *Ulocladium atrum* برای اولین بار از دنیا به عنوان یکی از قارچهایی که در سطح پهنک برگ ظاهر غربال را به وجود می‌آورند همراه با گونه‌های *Alternaria alternata* و *Wilsonomyces carpophilus* از درختان میوه هسته دار استان خراسان رضوی گزارش می‌شود. هر یک از قارچهای مذکور باعث بیماریهای لکه برگی در این درختان می شوند که شرایط میکروکلیمای غالب منطقه بروز حالت غربالی سطح برگ را در اثر این قارچها به وجود می‌آورد.

سپاسگزاری

این تحقیق در مرکز تحقیقات کشاورزی استان خراسان رضوی اجرا شده است. بدینوسیله نگارندگان مراتب قدردانی خود را از بخش آفات و بیماریهای گیاهی و بخش باغبانی که مساعدت های لازم را درانجام این تحقیق به عمل آورده اند، ابراز می دارند.

منابع

۱- اشکان م. و اسدی پ. ۱۳۵۰. بیماری غربالی درختان میوه. نشریه بیماریهای گیاهی، شماره ۲، جلد هفتم، اوین، تهران، صفحه ۳۹-۶۲.

۲- ارشاد ج. ۱۳۵۶. قارچهای ایران. نشریه مؤسسه بررسی آفات و بیماریهای گیاهی، شماره ۱، اوین، تهران، ۲۷۷ صفحه.

۳- پیغامی ا. ۱۳۶۳. مطالعه میکوفلور اندامهای هوایی درختان زردآلو و بررسی حالت تضاد آنها با عامل بیماری غربالی. نشریه بیماریهای گیاهی، شماره ۱-۴ جلد بیستم، اوین، تهران. صفحه ۵۱-۵۶.

۴- پیغامی ا. ۱۳۶۵. بررسی امکان مبارزه بیولوژیکی با عامل بیماری غربالی زردآلو به وسیله قارچ *Trichoderma viridae*. نشریه پژوهشی شماره ۳، دانشگاه تبریز.

۵- قانع م. ۱۳۲۶. بیماری درختان میوه. شماره ۱، سال چهارم، صفحه ۹-۱۳.

۶- حاجیان شهری م. ۱۳۸۳. بررسی بیولوژی و تنوع ژنتیکی *Uncinula necator* (Schw.) Burr. عامل بیماری سفیدک سطحی مو با استفاده از روش RAPD-PCR در استان خراسان. رساله دکتری در رشته بیماری شناسی گیاهی،دانشگاه تهران، ۱۳۵ صفحه.

7- Adaskaveg J.E., Ogawa J.M., and Buttler E.E. 1990a. Morphology and ontogeny of conidia in *Wilsonomyces carpophilus gen.nov.* and *comb.nov.*, causal pathogen of shot hole disease of *Prunus* spicies. Myco. 31:275-290.

8- Adaskavege J.E., Shaw D.A., and Ogawa J.M. 1990b. A mist generator and environmental monitoring system for field studies on shot hole disease of almond. Plant Dis. 74: 558-562.

9- Chelkowski J., and Visconti A. 1992. *Alternaria* biology, Plant disease and metabolites. Topic in Secondary Metabolism. 3. 35 pp.

10- Eastwell K.C. and ET AL., 2005. Sweet cherry disease. Washington State University Extension, Colleg of Agricultural, Human, and Natural Resources Science.

11- Ellis M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycol. Institute, Kew. 608 pp.

12- Ellis M.A. 2008. Cherry leaf spot. University Extension Fact Sheet, Plant pathology, Agriculture and Natural Resources, HYG-3021-08.

13- Hichman G.W. 2001. Preventing shot hole disease. University of California Cooperative Extension,

Archive of SID

www.SID.ir

Mariposa County.
14- Highberg L.M., and Ogawa J.M. 1986. Survival of shot hole inocolum in a association with dormant almond buds. Plant Dis. 70: 828-831.
15- Highberg L.M and Ogawa J.M. 1986. Yield reduction in almond related to incidence of shot hole disease. Plant Dis. 70: 9, 825-828.
16- Inoue K., and Nasu H. 2000. Black spot of peach caused by *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler. J. Gen. Plant Pathol. 66: 18-22.
17- Mendes M.C., Rosa F.O., and Souza G.H. 1998. Estimate of the production of *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler conidia in culture medium. Cinecia Agrotecno. 22:1, 122-125.
18- Nita M., Ellis M.A., and Madden L.V. 2003. Effects of temperature, wetness duration, and leaflet age infection of strawberry foliage by *Phomopsis obscurans*. Plant Dis. 87: 579-584.
19- Poole M.C., Kumar S., McKirdy S.J., Grimm M., Mackie A., Astbury C., and Stuart M.J. 2001. "Categorisation of pests of stone fruit from Eastern Australia, Final State Import Risk Analysis of cherry fruit (*Prunus avium*) from South Australia into Western Australia". The Western Australia Department of Agriculture, 152 pp.
20- Prikhodko V.P. 1975. Shot hole spot of stone fruit trees. Zashchita Rashchita Rast. 9: 47.
21- Rotem J. 1994. The Genus *Alternaria*: Biology, Epidemiology, and Pathogenicity. pp. 11-34, APS Press, Minneosota.
22- Sharma R.C., and Paul Y.S. 1986. Target leaf spot of peach- A new disease from India. Plant Dis. Res. 1: 90-91.
23- Shaw D.A., Adaskaveg J.E., and Ogawa J.M. 1990. Influence of wetness period and temperature on infection and development of shot hole disease of almond caused by *Wilsonomyces carpophilus*. Phytopathol. 80: 749-756.
24- Simmons E.G. 1967. Typification of *Alternaria*, *Stemphylium*, and *Ulocladium*. Mycologia. 59, 67-92.
25- Simmons E.G. 1982. Alternaria themes and variations (11-13). Myco. 1: 44-57.
26- Simmons E.G. 1992. *Alternaria* taxonomy: Current status, viewpoint, challenge. Pages 1-35 in : *Alternaria* Biology, Plant Disease and Metabolities. J. Chelkowski and A. Visconti, eds. Elsevier Science Publishers, Amsterdam.
27- Simmons E.G. 1998. Multiplex conidium morphology in species of the *Ulocladium atrum* group. Can. J. Bot. 76: 9, 1533-1539.
28- Simmons E.G . 1999. Alternaria themes and variations (236-243): host-specific toxin producers. Myco. 70: 325-369.
29- Teviotdale B.L., Viverose M., Freeman M.W., and Sibbert G.S. 1989. Effect of fungicides on shot hole disease of almonds. Calif. Agric. 43: 21-23.
30- Thomidis T. and Tsipouridis C. 2006. First report of Alternaria leaf spot on cherry trees in Greece. Pomology Institute Naoussa, Plant Dis. 90: 680.
31- Wilson E.E. 1937. The shot hole disease of stone fruit trees. Calif. Univ. Agri. Exp. Stn. Bull. 608: 40.
32- Zafar S.I., and Sufi N.A. 1972. Coryneum blight and other disease of apricot (*Prunus armeniaca*) in North-West Pakistan. Pakistan J. Sci. Ind. Res. 15: 3, 193-195.
33- Youngjun K., Hyang B.L., and Seung H.Y. 2005. First report of leaf spot on Japanese plum caused by an *Alternaria* sp. in Korea. Plant Dis. 89: 343.

Archive of SID

www.SID.ir