

## ارزیابی وقوع و شدت بیماری غربالی درختان میوه هسته دار در استان خراسان رضوی

اعظم یوسفی<sup>۱\*</sup> - ناصر پنجه که<sup>۲</sup> - محمد حاجیان شهری<sup>۳</sup> - محمد سالاری<sup>۴</sup> - ماهرخ فلاحی رستگار<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۸۸/۶/۸

تاریخ پذیرش: ۸۹/۲/۲۵

### چکیده

جهت ارزیابی وقوع بیماری غربالی و عوامل مؤثر در شدت آن از مناطق عمده پرورش ارقام تجاری درختان میوه هسته دار نمونه برداری به عمل آمد. قارچ اصلی عامل غربالی (*Wilsonomyces carpophilus*) از باغات آلوده جداسازی گردید. برای تعیین نحوه زمستانگذرانی قارچ در اندامهای زمستانگذران، ششستوی جوانه ها و به دنبال آن سانتیفریوژ آنها و کشت لکه ها روی محیط غذایی صورت گرفت و معلوم شد که قارچ در جوانه ها به صورت میسلیم و کنیدی و در سرشاخه ها به صورت میسلیم به سر می برد. ارزیابی بیماری در مناطق مختلف نشان داد که واکنش ارقام هسته دار به این بیماری در داخل یک اقلیم، ثابت است اما در مکانهای مختلف با یکدیگر فرق می کند.

**واژه های کلیدی:** *Wilsonomyces carpophilus*، شدت بیماری، زمستانگذرانی، درختان میوه هسته دار، خراسان رضوی

### مقدمه

هدف از این تحقیق، بررسی بیماری غربالی و ارزیابی شدت بیماری در مناطق کشت ارقام تجاری درختان میوه هسته دار در استان خراسان رضوی می باشد و عوامل مؤثر در میزان وقوع و شدت بیماری، نحوه زمستانگذرانی قارچ در اندامهای گیاه، مورفولوژی و شرایط بینه در جوانه زنی قارچ عامل بیماری جزو اهداف تحقیق بوده اند.

### مواد و روش ها

قارچ اصلی عامل غربالی از اندامهای هوایی درختان میوه هسته دار باغات آلوده تحت آزمایش جداسازی و خالص گردید. برای مطالعه بیماریزایی ارقام عمده هسته دار از روش مایه زنی با سوسپانسیون اسپور مطابق با روش شاو (۱۲) در شرایط نهالستان و بر روی سرشاخه های جوان زردآلو شاهرودی، هلو میثوری، آلو (رقم ناشناخته)، آلبالو مجار رقم اردی، گیلان سیاه مشهد استفاده شد. یک شاهد، برای هر میزبان انتخاب شد و با آب، مایه زنی شد. بعد از گذشت ۱-۲ هفته از زمان مایه زنی و ظهور علائم بیماری، سرشاخه ها از درخت جدا شدند و جداسازی مجدد، از نواحی نکروتیک صورت گرفت. تجزیه واریانس و مقایسات میانگین در سطح احتمال ۵٪ به روش دانکن در نرم افزار SAS (ver. 9.1) روی اطلاعات به دست آمده انجام شد.

بیماری غربالی برای اولین بار در سال ۱۸۵۳ در فرانسه، مشاهده شده است (۱۶). اشکان و اسدی (۱) گزارش کرده اند که این بیماری در تمام مناطق میوه خیز قسمت آسیایی و بعضی قسمتهای اروپایی شوروی سابق نیز، شیوع دارد. در ایران اولین بار، اسفندیاری در سال ۱۳۲۵ این بیماری را از روی درختان میوه هسته دار در مازندران، گیلان، گرگان و آذربایجان گزارش داده است. بیماری در اکثر مناطق کشور، کم بیش وجود دارد و تاکنون از شهرهای شیروان، گنبد، بجنورد، قوچان، ماکو، خوی، نهبندان و بسیاری از شهرهای دیگر گزارش گردیده است (۲ و ۱). میزان خسارت سالانه این بیماری در ایران به طور دقیق، معلوم نیست و این میزان در زردآلو ۲۲۴ میلیون ریال برآورد شده است (۳). مطالعات زیادی روی بیماری غربالی و گونه *W. carpophilus* در کشورهای خارج صورت گرفته است که تعدادی از آنها شامل بیولوژی قارچ و بیماری (۱۵)، اپیدمیولوژی (۱۱ و ۵)، بقای زاد مایه قارچ (۸ و ۷)، دامنه میزبانی قارچ (۱۴)، اثرات بیماری در کاهش عملکرد بادام (۹) و کنترل بیماری

۱، ۲ و ۴ - دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیاران گروه گیاهپزشکی، دانشگاه زابل

\* - نویسنده مسئول: (Email: azam\_yousefi85@yahoo.com)

۳ - عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی خراسان رضوی

۵ - استاد گروه گیاهپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد

قسمتهای برگ تشکیل شد که قطر لکه ها در برگهای مسن، بیشتر و در برگهای جوان، محدود به لکه های سرسوزنی که اندازه آنها حداکثر به دو میلیمتر می‌رسید، شد. اختلاف معنی داری در میان ارقام تحت آزمایش مشاهده شد و بر اساس آزمون دانکن، ارقام زردآلو شاهرودی، هلو میثوری و رقم آلو در یک گروه و ارقام محلی بادام و آلبالو مجار رقم اردی در گروه دیگر قرار گرفتند.

### بررسی نحوه زمستانگذرانی قارچ *W. carpophilus* در داخل جوانه

نحوه زمستانگذرانی قارچ *W. carpophilus* در داخل جوانه تعدادی از درختان میوه هسته دار به روش هیبرگ و اوگاوا (۸) با کمی تغییر، مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، از جوانه های سالم و آلوده درختان هلو، شلیل، زردآلو، بادام و آلو در طول زمستان ۱۳۸۶ و از باغات آلوده آستان قدس رضوی، کال زرکش و طرق به تعداد ۱۵۰-۱۰۰ عدد جوانه، جدا گردید و به آزمایشگاه منتقل گردید. شستشوی جوانه ها به کمک سانتریفیوژ انجام شد. سپس، به رسوب حاصل از آن ۰/۵ میلی لیتر آب مقطر سترون، اضافه گردید و روی سطح تشتک محیط های کشت آب-آگار ۱ درصد پخش شد. تشتک‌ها، در انکوباتور تاریک در دمای ۲۵ °C نگهداری شدند و بررسی آنها بعد از ۲۴ ساعت، در زیر میکروسکوپ مدل المپیوس CH2 با بزرگنمایی 10X عدسی شیئی صورت گرفت و درصد جوانه زنی کنیدی ها نیز تعیین شد.

### بررسی تأثیر دماهای مختلف بر جوانه زنی کنیدی قارچ *W. carpophilus*

دماهای ۱، ۵، ۱۰، ۱۲، ۱۵، ۱۸، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درجه سانتیگراد در این آزمایش مورد بررسی قرار گرفتند. بدین منظور، سوسپانسیون اسپور تهیه گردید و غلظت اسپور به وسیله هماسیتومتر در ۱۰<sup>۳</sup> (کنیدی بر میلی لیتر) تنظیم شد. با کمک پیت سترون، یک میلی متر از سوسپانسیون اسپور حاصل روی محیط های کشت آب-آگار ۱/۵ درصد پخش شد. درصد جوانه زنی اسپور بعد از ۲۴ و ۴۸ در هر دما محاسبه شد.

### نتایج

در شناسایی گونه *W. carpophilus* از مقاله توصیفی شرح خصوصیات ماکروسکوپی و میکروسکوپی آداسکویچ و همکاران (۴) و کتاب کلید قارچهای ناقص تالیف الیس (۶) استفاده شد.

### ارزیابی میزان خسارت ناشی از بیماری غربالی در تعدادی از ارقام هسته دار استان خراسان رضوی

به منظور بررسی میزان خسارت این بیماری، بدون در نظر گرفتن عامل بیماری و تفکیک حساسیت ارقام مختلف تجاری هسته دار و واکنش آنها نسبت به این بیماری در اقلیم منطقه ای که قرار گرفته اند، از چهار منطقه مهم و عمده پرورش درختان میوه هسته دار در استان خراسان رضوی، شامل باغات آستان قدس رضوی، گلمکان و طرق، نمونه برداری به صورت متوالی در طی اردیبهشت ماه سال ۱۳۸۷ صورت گرفت. برای به دست آوردن درصد وقوع بیماری و شدت آلودگی ارقام، نمونه برداری در دو مرحله انجام شد. برای تعیین ایندکس خسارت حاصل از این بیماری از روش فیوروکاوا و کیسوهای (۷) استفاده گردید. در این روش به دلیل محدودیت تعدادی از ارقام، ارزیابی به صورت جداگانه و با در نظر گرفتن نوع میزبان صورت گرفت. در مرحله بعد، برای تعیین شدت آلودگی ارقام در این چهار منطقه، از درختان آلوده ای که آلودگی متوسط به بالا داشتند، ۳۰ تا برگ، جدا شدند و درصد آلودگی برگی با به دست آوردن مساحت ناحیه نکروز و مساحت برگ، مطابق با روش لاگوپودی و تنسولاپوز (۱۰) محاسبه شد. در این آزمایش، شدت بیماریزایی مجموع ۴۰ رقم از مناطق مختلف که بدون در نظر گرفتن ارقام تکراری در هر منطقه شامل ۲۸ نوع رقم می شد و با در نظر گرفتن ۳۰ تکرار برگ برای هر رقم، مورد ارزیابی قرار گرفت و ارتباط شدت بیماریزایی ارقام مختلف، در مناطق گوناگون با شرایط آب و هوایی منطقه، به وسیله تجزیه کلاستر بررسی شد. تبدیل لگاریتمی داده های حاصل از درصد آلودگی ارقام مختلف انجام گرفته در سطح احتمال ۵٪ تجزیه واریانس شدند.

### روش شناسایی گونه *W. carpophilus*

برای شناسایی این قارچ، بر اساس روشهای آداسکاوایچ و همکاران (۴) از کشتهای خالص یک هفته ای آن که در انکوباتور تاریک با دمای ۲۵ °C روی محیط کشتهای PDA و MEA رشد داده شده بود، استفاده شد. خصوصیات پرگنه، رنگ آن و همچنین میزان رشد قارچ در هر دو محیط کشت مورد بررسی قرار گرفتند. طول و عرض ۴۰۰-۵۰۰ اسپور با بزرگنمایی 40X و 100X عدسی شیئی اندازه گیری شدند. برای کنیدیوفور نیز، طول و عرض ۶۰-۵۰ کنیدیوفور با بزرگنمایی 100X عدسی شیئی، رنگ، شکل و نوع رشد کنیدیوفور لحاظ شدند.

### نتایج بیماریزایی *W. carpophilus* روی ارقام هسته دار

لکه هایی به شکل گرد و به رنگ های ارغوانی تا بلوطی با حاشیه مشخص و در تعدادی موارد با تشکیل لایه جداگر، در همه

## ارزیابی خسارت ناشی از بیماری غربالی در تعدادی از ارقام

### هسته دار استان خراسان رضوی

نتایج بررسی های مختلف نشان داد که شدت بیماری در ارقام مختلف درختان میوه هسته دار و در مناطق بررسی شده یکسان نبود. تنوع درختان میوه هسته دار، سن درختان، سابقه بیماری در منطقه، زمان و میزان سمپاشی های بهاره و زمستانه و نوع سم به کار رفته علیه آفات و بیماریهای این درختان و از همه مهمتر شرایط آب و هوایی منطقه از جمله دماهای حداقل و حداکثر، رطوبت نسبی، میزان تبخیر و باد در ظهور و شدت بیماری تأثیرگذار بودند. تجزیه واریانس داده های حاصل از درصد آلودگی ارقام مختلف در مناطق گوناگون، اختلاف معنی داری را در بین تیمارها و در داخل تیمارها نشان داد که اثر متقابل تیمارهای داخل مکان نیز معنی دار بود. تجزیه کلاستر انجام شده روی داده ها، اختلاف اقلیم مناطق طرق و باغات استان قدس واقع در مشهد را با باغات گلمکان در میزان شدت آلودگی مشخص کرد. واکنش ارقام به این بیماری داخل یک اقلیم، ثابت بوده ولی واکنش ارقام بین مکانهای مختلف، فرق می کند.

### تأثیر درجه حرارت های مختلف بر جوانه زنی کنیدی قارچ

#### *W. carpophilus*

نتایج نشان داد که اپتیمم میزان جوانه زنی کنیدی بعد از ۲۴ ساعت در دمای  $15^{\circ}\text{C}$ ، ۹۵ درصد و کمینه آن در دمای  $1^{\circ}\text{C}$ ، به میزان ۰/۵ درصد بود. اختلاف معنی داری از تجزیه واریانس داده های حاصل از ۱۰ تکرار در هر دمای آزمایشی به دست آمد که این نشانهنده این بود که میزان جوانه زنی در دماهای متفاوت، اختلاف چشمگیری با یکدیگر داشتند.

## بحث

در ارزیابی بیماری در مناطق پرورش ارقام تجاری درختان میوه هسته دار در استان خراسان رضوی، مشخص شد که با افزایش دما و تبخیر و در نتیجه کاهش میزان رطوبت مطلق و نسبی، وقوع و شدت بیماری در برگ، افزایش پیدا می کند و دما در ریزش لکه ها و تشکیل حالت غربال نقش مؤثری دارد که با نتایج گرفته شده توسط شاو (۱۲) مطابق است. اپتیمم دما برای جوانه زنی کنیدی *W. carpophilus* دمای  $12-22^{\circ}\text{C}$  روی محیط PDA توسط آداسکاوچ و همکاران (۴) گزارش شده است که با نتایج حاصل از درصد جوانه زنی در دماهای مختلف در شرایط آزمایشگاهی انجام شده مطابقت دارد اما بر خلاف دمای مینیمم و ماکزیمم که به ترتیب  $5^{\circ}\text{C}$  و  $30^{\circ}\text{C}$  نیز به ثبت رسید و انتظار می رود که قارچ بتواند در زیر دمای  $1^{\circ}\text{C}$  در زمان طولانی تری جوانه زنی کند. زمستانگذرانی این قارچ در منابع مختلف عمدتاً روی بادام و هلو به صورت میسلیم و کنیدی گزارش شده است (۸۱) در حالی که در این تحقیق نحوه زمستانگذرانی و بیماریزایی قارچ روی تمام میزبانهای هسته دار آزمایش شد و وجود میسلیم و کنیدی در اندامهای زمستانگذران به اثبات رسید.

بیماری غربالی، یک بیماری جدی در گونه های هسته دار در تعدادی از نواحی نیمه خشک جهان است (۱۱۰۵) که کشور ما نیز با توجه به اقلیمی که دارد از همه گیر شدن این بیماری مصون نمی باشد. اما اقلیم کشورمان تا حدی متفاوت با سایر کشورهایی می باشد که این بیماری در آنجا اهمیت داشته است. بنابراین نتایج، به طور قطع، قابل تعمیم نخواهد بود. این تحقیق، مقدمه ای است برای حل مسائل مربوط به این بیماری و امید است که بتواند زمینه را برای تحقیقات بعدی فراهم کند.

## منابع

- ۱- اشکان م، اسدی پ. ۱۳۵۰. بیماری غربالی درختان میوه. نشریه بیماریهای گیاهی، شماره ۲، جلد هفتم، اوین، تهران، صفحه های ۳۹-۶۲.
- ۲- ارشاد ج. ۱۳۵۶. قارچهای ایران. نشریه مؤسسه بررسی آفات و بیماریهای گیاهی، شماره ۱، اوین، تهران، ۲۷۷ صفحه.
- ۳- بهداد ا. ۱۳۵۸. بیماریهای درختان میوه در ایران. مؤسسه بررسی آفات و بیماریهای گیاهی، اصفهان، ۲۹۳ صفحه.
- 4- Adaskaveg J.E., Ogawa J.M., and Buttler E.E. 1990. Morphology and ontogeny of conidia in *Wilsonomyces carpophilus* gen.nov. and *comb.nov.*, causal pathogen of shot hole disease of Prunus species. Myco. 31:275-290.
- 5- Adaskaveg 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.
- 6- Ellis M.B. 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. Commonwealth Mycol. Institute, Kew. 608 pp.
- 7- Furukawa T., and Kishi K. 2001. Alternaria leaf spot on tree species of pelargonium caused by *Alternaria alternata* in Japan. J. Gen. Plant Pathol. 67: 268-272.
- 8- Highberg L.M., and Ogawa J.M. 1986. Survival of shot hole inoculum in an association with dormant

- almond buds. *Plant Dis.* 70: 828-831.
- 9- 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.
- 10- Lagopodi A.L., and Thanassouloupoulos C.C. 1998. Effect of a leaf spot disease caused by *Alternaria alternata* on yield of sunflower in Greece. *Plant Dis.* 82: 41-44.
- 11- Rafaila C., and Zaharia A. 1979. Biological and ecological features' of *Stigmina carpophila* (Lev.) M. B. Ellis needed for the determination of forecasting and monitoring elements. *Analel Institutului Cercetari Pentru Protection Plantelor*, 14: 51-60.
- 12- 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*. *Phyto.* 80: 749-756.
- 13- 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.
- 14- 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.
- 15- Wilson E.E. 1937. The shot hole disease of stone fruit trees. *Calif. Univ. Agri. Exp. Stn. Bull.* 608: 40.
- 16- Wilson E.E. 1953. Coryneum blight of stone fruit. Pages 705-710 in: *USDA Yearbook of Agricultural Plant Disease*. Government Printing Office, Washington, DC.

Archive of SID