نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار/ جلد 24 شماره 2/ تابستان 1393

بررسی خصوصیات بیولوژیکی (Syn. *Uncinula necator*) *Erysiphe necator* عامل بیماری سفیدک سطحی انگور در مشگین شهر

حسین کربلایی خیاوی[1*]، حاجی شیخلینسکی[2] و اسدالله بابای اهری[3]

تاریخ دریافت: 91/03/01 تاریخ پذیرش: 92/07/09

1- مربی پژوهشی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل
2- استاد آکادمی ملی علوم آذربایجان، انستیتوی ذخایر ژنتیکی
3- استادگروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز
*. مسئول مکاتبه: E-mail: hossein_karbalaee@yahoo.com

چکیده

بیماری سفیدک سطحی انگور *Erysiphe necator* از لحاظ اقتصادی یکی از مهمترین بیماری های انگور در ایران و دنیا بشمار می رود و در صورت فراهم شدن شرایط مناسب خسارت قابل توجهی به تاکستان ها وارد می سازد. به منظور بررسی بیولوژی سفیدک سطحی انگور و عامل مولد مایه تلقیح اولیه در ایجاد اپیدمی آزمایشی در طی سال های 1389- 1387 در مشگین شهر انجام گرفت. بر اساس بررسی های انجام شده قارچ عامل بیماری به صورت میسلیوم در درون جوانه های آلوده و در حال خواب انگور زمستان گذرانی می کند که با مطالعات دقیق هیستوپاتولوژیکی وجود میسلیوم در درون جوانه های در حال خواب به اثبات رسید. نتایج بدست آمده نشان داد که پس از شروع فعالیت رویشی گیاه، اگر به مدت 4 روز میانگین دما بین 19– 16 درجه سلسیوس و میانگین رطوبت نسبی بیش از 50 درصد باشد قارچ عامل بیماری رشد و فعالیت خود را آغاز می کند. دمای مناسب برای رشد و اسپورزایی این قارچ 25-20 درجه سلسیوس به همراه رطوبت نسبی 100– 40 درصد و نور ضعیف است. نخستین کنیدی های قارچ عامل بیماری در مرحله 5 تا 6 برگی و دراز شدن گل آذین ها توسط لام های تله ای به دام افتادند. اولین کلنی های بیماری در مرحله تشکیل میوه و حبه کوچک ظاهر شدند. کاسموتسیوم های قارچ عامل بیماری در آخر فصل رویش به وفور روی برگ ها، دمبرگ ها و شاخه ها تشکیل ولی کلیه کلیستوتسیوم ها در طول زمستان از بین رفتند. در این پژوهش بیماری زایی آسکوسپورهای قارچ عامل بیماری روی برگ های جوان انگور به اثبات نرسید.

واژه های کلیدی: اپیدمیولوژی، سفیدک پودری انگور، کلیستوتسیوم، *Erysiphe necator* ,*Oidium tuckeri*

Study on the Biological Characteristics of *Erysiphe necator* (Syn. *Uncinula necator*), the Causal Agent of Grape Powdery Mildew Disease in Meshkinshahr

H Karbalaei Khiavi[1*], H Shikhlinski[2] and A Babai Ahari[3]

Received: May 21, 2012 Accepted: October 1, 2013
1- Scientific member, PhD of Plant Pathology, Agriculture and Natural Resources Research Center of Ardabil Province, Iran
2- Prof, Azarbaijan National Academy of Sciences, Genetic Resources Institute, Azerbaijan
3- Prof, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture , University of Tabriz, Iran
*Corresponding author: E-mail: hossein_karbalaee@yahoo.com

Abstract

Grape powdery mildew, *Erysiphe necator*, economically is one of the most important diseases of grapevine around the world including Iran, and it may cause considerable damage to vineyards under appropriate conditions for the disease progress. In order to study the biology of the causal agent as well as primary inoculums sources for the establishment of the epidemic, an experiment was carried out in the Meshkinshahr in 1387-1389. Results of the histopathological experiments showed that the fungus survives as mycelia in the dormant infected buds of the grapevine during the winter. Results on the study of the effect of environmental factors on the biology of the causal agent revealed that the temperature range between 16-19°C for 4 days and the relative humidity above 50% favor the growth and activity of the causal agent in the beginning of the growth season. Our results also showed that optimum temperature and relative humidity for the sporulation of the causal agent was 20-25°C and 50-100% respectively with weak light. Fungal conidia were trapped during the formation of 5-6 true leaves and after post bloom. Disease colonies were first observed in the fruit formation and buckshot berries stages. Fungal chasmothecia were observed abundantly at the end of growth season on the leaves, petioles and twigs but they were not able to survive during winter. Our results also revealed that ascospores were not pathogenic on young leaves.

Key Words: Cleistothecia, Epidemiology, *Erysiphe necator*, *Oidium tuckeri*, Powdery mildew

مقدمه

انگور (*Vitis vinifera* L.) یکی از محصولات مهم باغی در ایران بشمار می رود (بهداد 1366، بنی هاشمی و پروین 1374) بطوریکه در سال زراعی 1388-1387 سطح زیر کشت انگور در ایران حدود 315000 هکتار و با میزان تولید 2710000 تن محصول بوده است. مناطق عمده تولید انگور در ایران عبارتند از: استان های فارس، خراسان، قزوین، آذربایجان شرقی و

غربی، همدان و اردبیل که استان اردبیل با 2500 هکتار سطح زیر کشت و تولید 22500 تن محصول، مقام هیجدهم را در کشور به خود اختصاص داده است (بی نام 1388). بیماری سفیدک سطحی انگور یکی از بیماری های مهم در تاکستان ها بوده و در اکثر مناطق انگور کاری دنیا وجود دارد (دین و گرای 2008، فرنکل و همکاران 2010 و گادوری و همکاران2011 و 2012). این بیماری در صورت فراهم شدن شرایط محیطی مناسب بیش از هر بیماری دیگر به انگور خسارت وارد کرده و موجب کاهش محصول، کاهش کیفیت میوه، حساسیت به بیماری کپک خاکستری و افزایش هزینه تولید را سبب می شود. اعتقاد بر این است که قارچ عامل بیماری *E. necator* بومی آمریکای شمالی بوده و در سال 1845 از اروپا گزارش و سپس سریعاً در سایر قاره ها انتشار یافته و خسارت زیادی را به بار می آورد (بهداد 1366، بابای اهری و هوشنگی 1373، گاودری و همکاران 2001، هالن و هولز 2001، واین و ویلکوکس 2003، کاریس و همکاران 2006 و دین و گرای 2008). بیماری سفیدک سطحی انگور در ایران ابتدا در سال 1325 گزارش شده است. این بیماری در تمام نقاط انگورکاری ایران وجود داشته و در بعضی سال ها خسارت آن 60 – 55 درصد برآورد گردیده است (بهداد 1366). قارچ عامل بیماری سفیدک سطحی انگور می‌تواند تمام قسمت های سبز درخت انگور را مورد حمله قرار دهد (هالن و هولز 2001، فرنکل و همکاران 2010 و گادوری و همکاران 2011). زمستان گذرانی قارچ عامل بیماری سفیدک سطحی انگور به شکل میسلیوم در جوانه های در حال خواب انگور به عنوان شکل اصلی زمستان گذرانی در اغلب نواحی انگورکاری دنیا به اثبات رسیده است (بهداد 1366، پیرسون و گادوری 1987 و گادوری و پیرسون 1990). علی رغم اینکه اغلب محققین بر این عقیده هستند که زمستان گذرانی قارچ عامل بیماری به صورت میسیلیوم در جوانه های در حال خواب انگور انجام می شود و مرحله جنسی قارچ نقشی در بقا ندارد (پیرسون و گادوری 1987، گادوری و پیرسون 1990 و فرنکل و همکاران 2010) اما برخی از محققین بقای آن را به صورت مرحله جنسی ذکر نموده اند (هالن و هولز 2001). علاوه بر آن، نتایج تحقیقات انجام یافته در تاکستان های ایتالیا نشان داد که بیشترین درصد زنده ماندن کلیستوتسیوم روی پوست گیاه انگور بوده و در خاک هیچ گونه کلیستوتسیوم زنده یافت نشد (کورتسی و همکاران 1997). برانلی و همکاران (2004) گزارش کردند که قارچ *E. necator* دارای دو بیوتیپ بوده و این قارچ می تواند به دو حالت کلیستوتسیوم و میسلیوم زمستان گذرانی کند. دین و گرای (2008) گزارش کردند که نحوه زمستان گذرانی *E. necator* مشخص نبوده و ممکن است زمستان گذرانی قارچ به صورت میسلیوم و یا آسکوکارپ باشد. بر اساس مطالعات انجام شده در نیویورک میسلیوم قارچ *E. necator* درجوانه های در حال خواب انگور پیدا نشد اما آسکوسپورهای این قارچ بوسیلهٔ اسپورگیرهای حجمی بعد از باز شدن جوانه ها از تاکستان ها جمع آوری گردید. در این ایالت اولین کلنی های بیماری سفیدک سطحی انگور در روی برگ ها زمانی که اندازه شاخه ها 30-7 سانتی متر بودند مشاهده شدند. بررسی های انجام یافته در زمینه شروع، توسعه، پراکندگی و بقای آسکوکارپ های قارچ عامل بیماری *E. necator* نشان داد که حدود 100- 95 درصد آسکوکارپ های تشکیل شده در سطح اندام های انگور در طی زمستان از بین رفتند و هیچ آسکوکارپ زنده ای از برگ های پوسیده به دست نیامد (پیرسون و گادوری 1987). بر اساس تحقیقات انجام یافته دمای مورد نیاز جهت جوانه زنی کنیدی ها ی قارچ عامل بیماری 6 درجه سلسیوس و دمای مناسب 25 درجه سلسیوس بوده و در دمای بالاتر از 31 درجه سلسیوس رشد قارچ کند و در دمای بالاتر از 35 درجه سلسیوس رشد میسلیوم ها متوقف می‌گردد (دلپ 1954). بنی هاشمی و پروین (1374) برای اولین بار از

استان فارس وجود کلیستوتسیوم های قارچ عامل بیماری سفیدک سطحی انگور را گزارش کرده اند هر چند که در اغلب نقاط انگورکاری ایران کلیستوتسیوم ها روی برگ های مسن و شاخه های انگور به فراوانی تشکیل می شود اما نقش آنها در اپیدمی بیماری کاملاً مشخص نیست. در مناطق مختلف مشگین شهر منبع تلقیح اولیه برای شروع اپیدمی های سفیدک سطحی انگور مشخص نیست ولی از اوایل مهر ماه تا آبان ماه تعداد زیادی کلیستوتسیوم این قارچ روی برگ ها و شاخه های انگور تشکیل می شوند. این تحقیق به منظور بررسی چگونگی زمستان گذرانی قارچ عامل بیماری و زمان بروز آلودگی های اولیه و ثانویه با توجه به شرایط اقلیمی و فنولوژی انگور در مشگین شهر انجام گرفت. مراحل مختلف فنولوژیکی گیاه انگور شامل 1- خواب زمستانی 3- مرحله کرک دار شدن جوانه ها 5- شکفتگی جوانه ها 7-ظهور اولین برگ 12- مرحله 5-6 برگی 15- دراز شدن گل آذین 19- آغاز گل دهی 23- مرحله کامل گل دهی 27- تشکیل میوه 29- مرحله حبه کوچک 31- آویزان شدن خوشه ها 33- آغاز تماس حبه ها با یکدیگر 35- آغاز رسیدن حبه 38- برداشت حبه ها و 43- خزان برگ ها است (آیشهورن و لورنس 1977).

مواد و روش ها

1- بررسی پراکنش عامل بیماری

به منظور بررسی وضعیت پراکنش بیماری در منطقه مورد مطالعه، در فاصله بین سال های 87 تا 89 تاکستان های شهرستان مشگین شهر از ابتدای فروردین ماه تا اواخر آبان ماه بطور مرتب مورد بررسی قرار گرفتند. در این بازدیدها برگ ها، خوشه ها و شاخه های آلوده انگور جمع آوری و در درون کیسه های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل گردید. در آزمایشگاه به کمک بینوکلر هر دو سطح برگ ها و تمام سطوح شاخه ها بررسی و سپس از نمونه ها لام های میکروسکوپی لازم تهیه و مورد مطاله قرار گرفت. ارقام عمده انگور کاشته شده در این باغات ارقام کشمشی، رسمی و شاهانی از گونه *Vitis vinifera* L. بودند.

2- تعیین زمان خروج و پراکنش کنیدی ها و آسکوسپورها

از نیمه اول اسفند ماه تا اواخر شهریور ماه سال های مورد مطالعه و به منظور مشاهده زمان خروج و پخش اسپورها در منطقه تعداد 20 عدد پایه چوبی به ارتفاع 25، 50، 75 و 100 سانتی متر در پنج نقطه باغ مورد آزمایش در بین ردیف های انگور ارقام کشمشی و رسمی که بصورت پاچراغی کاشته شده بودند نصب گردید و روی هر پایه در سطوح بالایی، زیری و کناری پنج عدد لام آغشته به وازلین چسبانده شد. لام ها هر چهار روز یکبار تعویض و به آزمایشگاه منتقل و در آنجا دو خط میانی به فواصل 0/7 میلی متر در سراسر قسمت میانی لام ها کشیده و با محلول کاتن بلو- لاکتوفنل رنگ آمیزی و تعداد اسپورها در زیر میکروسکوپ با بزرگ نمایی 10x شمارش و ثبت گردید (گی و همکاران 2000). برای تعیین رابطه بین کنیدی زایی قارچ و تغییرات شرایط جوی، آمار هواشناسی منطقه مرتباً از ایستگاه هواشناسی مشگین شهر دریافت و میانگین حرارت و رطوبت نسبی مربوط به هر چهار روزی که لام ها روی پایه قرار داشتند محاسبه می شد.

3- بررسی جوانه های در حال خواب انگور به منظور مشخص نمودن وجود یا عدم وجود میسلیوم قارچ عامل بیماری در درون جوانه ها

از اوایل فروردین ماه سال های 1389- 1387 در مرحله فنولوژی 1 و 3 انگور از جوانه های در حال خواب موجود روی شاخه ها نمونه برداری و جهت مشخص نمودن وجود یا عدم وجود میسلیوم در درون جوانه ها با استفاده از روش نوموا (1972) عملیات تثبیت، قالب گیری، برش میکروتومی و رنگ آمیزی

روی نمونه ها انجام گرفت. به منظور تثبیت نمونه ها از تثبیت کننده فرمالین- اسید استیک- الکل (FAA) استفاده گردید. نمونه های مورد آزمایش بمدت 24 ساعت در این فیکساتیو نگهداری شد. برای آبگیری نمونه ها از تکنیک جابجایی فاز مایع با الکل استفاده شد (سری بوتیل الکل نوع سوم با غلظت های 70، 85، 95 و 100 درصد). جهت آغشته سازی و قالب گیری نمونه ها، پارافین مذاب مورد استفاده قرار گرفت. نمونه های آغشته شده در داخل قالب پر از پارافین قرار داده شدند و ضمن انجماد پارافین، نمونه ها نیز در داخل آن باقی مانده و آماده مقطع گیری گردیدند. نمونه ها همراه با قالب پارافینی توسط دستگاه میکروتوم دوار به ضخامت 20- 15 میکرومتر برش داده شدند. به منظور چسباندن برش های تهیه شده روی لام ها از ژلاتین استفاده گردید. جهت حذف پارافین از نمونه ها، اسلایدها در دو نوبت در زایلول خالص و پس از آن در حجم مساوی از زایلول و اتانول مطلق به مدت 5 دقیقه قرار داده شدند. نهایتاً نمونه ها جهت آبدهی به سری الکل اتیلیک 95، 85 و70 درصد منتقل و سپس نمونه های آماده شده بوسیله محلول کاتن بلو- لاکتوفنل رنگ آمیزی و با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفتند.

4- قابلیت بقای کلیستوتسیوم ها در طول فصل

آسکوکارپ های موجود در سطح برگ ها و شاخه های آلوده از مهر ماه سال های 1389- 1387 تا اردیبهشت ماه با استفاده از روش کورتسی و همکاران (1997) هر ماه یک بار جمع آوری شدند. هر بار 50 عدد آسکوکارپ به صورت منفرد روی لام میکروسکوپ منتقل شده و قابلیت زنده ماندن آنها در محلول 0/01 درصد فلوئورسین دی استات در آب بعد از 5 دقیقه تحت میکروسکوپ فلوئورسانس بر اساس روش گی و همکاران (2000) بررسی شد. آسکوکارپ هایی زنده محسوب شدند که 50% آسکوسپورهای آن رنگ سبز روشن فلوئورسانس را نشان دهند.

5- بررسی بیماری زایی آسکوسپورها

در طی سال های 1389- 1387 برای اثبات بیماری زایی آسکوسپورهای قارچ عامل بیماری نخست برگ های انگور ارقام کشمشی و رسمی که به ابعاد تشتک پتری با قطر 9 سانتی متر بودند انتخاب و به مدت 5 دقیقه با محلول هیپوکلریت سدیم 1% ضد عفونی شدند. برگ های فوق از محل دم برگ در داخل یک تشتک پتری محتوی 25 میلی لیتر محیط آب- آگار 1/5 درصد همراه با 100 قسمت در میلیون بنزیمیدازول که قبلاً در سطح آن چهار خلال چوب کبریت استریل به منظور ایجاد فاصله بین برگ و سطح محیط کشت تعبیه شده بود فرو برده شد در درب هر تشتک پتری نیز دو برگ کاغذ صافی استریل تعبیه و با 2 میلی لیتر آب استریل خیس گردید. سپس چهار دیسک کاغذی که روی هر یک 20 عدد کلیستوتسیوم قارچ عامل بیماری قرار داده شده بود روی کاغذ صافی موجود در درب تشتک پتری گذاشته شد و پایه تشتک پتری به صورت وارونه روی آن قرار گرفت و با پارافیلم به منظور حفظ رطوبت مسدود شد. سپس تشتک های پتری در ژرمیناتور با دمای 25 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی100% که 4 عدد لامپ فلورسنت با شدت نور 2000 لوکس نیز در آن روشن بود قرار داده و بعد از 10 روز تشتک های پتری از درون ژرمیناتور خارج و وجود و یا عدم وجود کلنی های قارچ عامل بیماری *E. necator* روی برگ های بریده انگور بررسی شد (اوانتس 1996).

6- بررسی تأثیر دما روی جوانه زنی کنیدی های عامل بیماری

برای تعیین زمان شروع و حداکثر جوانه زنی کنیدی ها، تعیین درصد جوانه زنی کنیدی ها در دماهای مختلف و همچنین تعیین دمای مناسب برای جوانه زنی

کنیدی ابتدا رطوبت نسبی ژرمیناتور روی 100% و با شدت نور 2000 لوکس تنظیم شد. روی لام ها حدود 400 عدد کنیدی قرار داده شد و در دامنه دمایی 34-7 درجه سلسیوس و با فواصل 3 درجه سلسیوس آزمایش شدند. هر تیمار در 4 تکرار انجام گرفت. پس از گذشت 2 ساعت از شروع قرار دادن لام های میکروسکوپی کنیدی های جوانه زده روی هر لام شمارش و دوباره به ژرمیناتور منتقل شد سپس هر 4 ساعت یک بار تا حداکثر 34 ساعت این عمل ادامه داشت (اسپنسر 1978).

7- بررسی تأثیر رطوبت نسبی روی جوانه زنی کنیدی ها

تاثیر رطوبت های نسبی 10، 20، 40، 60، 80 و 100 درصد روی جوانه زنی کنیدی ها در ژرمیناتور با دمای 25 درجه سلسیوس با 4 لامپ فلورسنت روشن (2000 لوکس) مورد بررسی قرار گرفت. برای هر رطوبت نسبی 4 لام میکروسکوپی انتخاب و روی هر لام 400 عدد کنیدی قرار داده شد و پس از گذشت 34 ساعت تعداد کنیدی های جوانه زده روی هر لام شمارش و ثبت شد (اسپنسر 1978).

8- بررسی اثر نور روی جوانه زنی کنیدی ها

برای این منظور در کف 4 عدد تشتک های پتری چند لایه کاغذ صافی قرار داده و به کمک پیست کاملاً مرطوب گردید سپس 2 عدد چوب کبریت روی کاغذ های صافی مرطوب قرار داده و یک عدد لام میکروسکوپی حاوی 400 عدد کنیدی طوری روی چوب ها قرار داده شد که با کاغذ صافی مرطوب تماس نداشته باشد. سپس هر یک از تشتک های پتری درون یک اتاقک تاریک مقوایی به ابعاد 10×10×20 سانتی متر قرار گرفت و در ژرمیناتور با دمای 25 درجه سلسیوس به مدت 34 ساعت نگهداری شد و هم زمان با آن 4 عدد لام که هر یک حاوی 400 عدد کنیدی بود به مدت 34 ساعت در ژرمیناتور با شرایط دمای 25 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 100% که 4 عدد لامپ فلورسنت (2000 لوکس) نیز در آن روشن بود قرار داده و پس از 34 ساعت لام ها از درون ژرمیناتور خارج و با میکروسکوپ نوری کنیدی های جوانه زده شمارش گردید (اسپنسر 1978).

نتایج

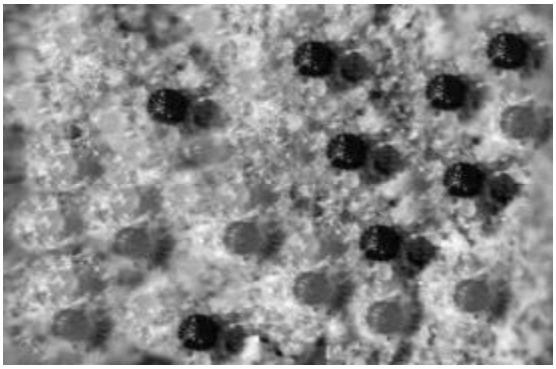
علایم بیماری سفیدک سطحی انگور در سرشاخه ها و جوانه های برگی جوان انگور در اوایل فصل رشد رویشی مشاهده نگردید. علایم این بیماری در هنگام ظهور به صورت توده ریسه ای سفید رنگ در سطح رویی برگ ها و اغلب در حاشیه برگ های شاخه های جانبی جوان به طول30- 7 سانتی متر از اواخر خرداد ماه قابل رویت بود. مطالعه سیر پیشرفت بیماری با توجه به مراحل فنولوژیک گیاه انگور نشان داد که در سال های 1389- 1387 نخستین نشانه های بیماری سفیدک سطحی انگور در مرحله فنولوژی 27 و 29 (مرحله تشکیل میوه و حبه کوچک) به صورت لکه های کوچک رنگ پریده روی برگ ها مشاهده و در اوایل تیر ماه (میانگین دما 21/5 درجه سلسیوس و میانگین رطوبت نسبی 52%) با آغاز تورم حبه ها، کنیدی های قارچ روی لکه های آلوده ظاهر گردیدند. در طول زمان با مساعد شدن دما، تعداد لکه ها روی برگ ها افزایش قابل توجهی نشان داد و در زمان رسیدن حبه ها و در اوایل شهریور ماه شدت بیماری روی برگ های مسن و خوشه های آلوده به 100 درصد رسید (میانگین دما 23/2 درجه سلسیوس و میانگین رطوبت نسبی 57%). تولید کنیدی در قارچ عامل بیماری تا 27 شهریور ماه ادامه داشته و سپس متوقف گردید (میانگین دما 12/6 درجه سلسیوس و میانگین رطوبت نسبی 65%).

بررسی های انجام یافته در طی سه سال نشان داد که در محدوده زمانی 6-1 خرداد ماه (متوسط دما 6/ 17 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 58/3%) در مرحله فنولوژی 12 و 15 انگور (مراحل 5 تا 6 برگی و دراز شدن گل آذین ها) نخستین کنیدی های قارچ عامل

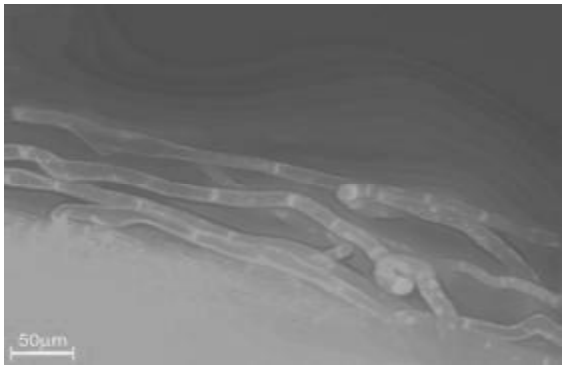
بیماری *E. nectaor* در روی لام های تله ای مشاهده و اولین نشانه های بیماری روی برگ ها بین 28-26 خرداد ماه رویت گردید. بیشترین کنیدی زایی و شکار کنیدی ها در محدوده زمانی 28 تیر تا 28 مرداد ماه اتفاق افتاد (متوسط دما 22/7 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 53/9%). از اوائل شهریور ماه کنیدی زایی قارچ عامل بیماری کاهش یافت بطوری که از 26 شهریور ماه به بعد هیچ کنیدی در لام های تله ای پیدا نشد. بتدریج از اوایل مهر ماه در روی برگ ها و خوشه های انگور آسکوکارپ های قارچ عامل بیماری ظاهر گردیدند (متوسط دما 12/35 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 69%). اولین آسکوکارپ قارچ در تاریخ 1387/7/10، 1388/7/12 و 1389/7/13 به ترتیب 107، 109 و 110 روز بعد از پیدایش علائم بیماری بر روی برگ ها و حبه ها ی انگور دیده شدند (شکل 1). نتایج بررسی های سه ساله در تاکستان های مشگین شهر نشان داد که کلیه کلیستوتسیوم های قارچ عامل بیماری *E. nectaor* در طی زمستان از بین رفتند و در بهار هیچ آسکوکارپ زنده ای از نمونه های برگ های پوسیده انگور بدست نیامد. همچنین بیماری زایی آسکوسپورها روی برگ های بریده انگور که با کلیستوتسیوم های داخل کیسه های نگهداری شده در باغ مایه زنی شده بودند به اثبات نرسید. بدین ترتیب نقش کلیستوتسیوم ها در زمستان گذرانی و بیماری زایی قارچ عامل بیماری رد شد.

نتایج بررسی جوانه های انگور در طی سه سال در تاکستان های مشگین شهر بیانگر آن است که قارچ عامل بیماری سفیدک سطحی انگور به صورت میسلیوم غیر فعال در درون جوانه های آلوده و در حال خواب انگور زمستان گذرانی می کند که با مطالعات دقیق هیستوپاتولوژیکی وجود میسلیوم در درون جوانه های دورمانت و نقش آنها در بیماری زایی و اپیدمیولوژی قارچ *E. nectaor* به اثبات رسید (شکل 2).

نتایج بررسی اثر شرایط محیطی روی جوانه زنی کنیدی های *E. nectaor* در ژرمیناتور نشان داد که جوانه زنی کنیدی ها در دمای کمتر از 10 درجه سلسیوس بسیار جزئی و بیشترین جوانه زنی کنیدی ها در دمای 25 درجه سلسیوس و رطوبت های نسبی 100- 40 درصد اتفاق می افتد. این رطوبت ها تقریباً تأثیر یکسانی روی جوانه زنی کنیدی ها داشته جوانه زنی کنیدی ها با افزایش دما از 25 به 33 درجه سلسیوس کاهش و جوانه زنی آنها در دمای بالاتر از 34 درجه سلسیوس بطور کامل متوقف گردید (جدول 1 و 2). در این بررسی ها میزان جوانه زنی کنیدی های قارچ عامل بیماری سفیدک سطحی انگور در حضور نور ضعیف و پیوسته تقریباً دو برابر میزان جوانه زنی آنها در تاریکی مطلق بود.



شکل 1- کلیستوتسیوم های قارچ *E. necator* روی برگ آلوده انگور.



شکل 2- میسلیوم های قارچ *E. necator* در درون جوانه آلوده و در حال خواب انگور.

جدول 1- درصد جوانه زنی کنیدی های قارچ عامل بیماری سفیدک سطحی انگور در دماهای مختلف، رطوبت نسبی 100% و نور فلورسنت 2000 لوکس پس از 34 ساعت.

دما (°c)	شروع جوانه زنی (ساعت)	درصد جوانه زنی در شروع	درصد جوانه زنی پس از 34 ساعت	حداکثر جوانه زنی (ساعت)
7	19	0/24	5	29 -34
10	18	1/23	7	29 -34
13	11	1/6	11	27 -29
16	11	2/95	13	22 -25
19	2	5/3	28	21 -25
22	2	15	62	18 -22
25	2	18/5	78	14 -18
28	2	15/75	63	11 -15
31	2	6/1	27	6 -10
33	2	0/65	--	0 -2
34	-	-	-	-

جدول 2- اثر رطوبت نسبی روی جوانه زنی کنیدی های قارچ عامل بیماری سفیدک سطحی انگور در دمای 25 درجه سلسیوس و نور فلورسنت 2000 لوکس پس از 34 ساعت.

رطوبت نسبی (درصد)	10	20	40	60	80	100
جوانه زنی (درصد)	5	13	68	75	76	79

بحث

در این پژوهش مشخص گردید که میسلیوم های *E. nectaor* در زمستان در درون جوانه های آلوده و در حال خواب انگور زنده می مانند و از اوایل خرداد ماه کنیدی های قارچ عامل بیماری آزاد شده و می توانند گیاه انگور را آلوده نمایند و به عنوان مایه تلقیح اولیه عمل کنند. اگر چه زمستان گذرانی این قارچ به شکل میسلیوم در درون جوانه های آلوده و در حال خواب انگور در نواحی مختلف دنیا به اثبات رسیده است (بهداد 1366، پیرسون و گادوری 1987، گادوری و پیرسون 1990 و فرنکل و همکاران 2010) ولی تا بحال در زمینه این شکل زمستان گذرانی قارچ مذکور در بسیاری از نقاط ایران و مشگین شهر بررسی صورت نگرفته است. علائم این بیماری به شکل آلودگی سر شاخه های جوان بعد از تشکیل فلاگ شوت ها[1] در بررسی های سطح منطقه دیده نشد. در تاکستان ها اولین کنیدی های قارچ عامل بیماری در تاریخ 1387/3/6، 1388/3/2 و 1389/3/1 در مرحله 5 تا 6 برگی و دراز شدن گل آذین ها توسط لام های تله ای شکار شدند. علائم بیماری در هنگام ظهور به صورت کلنی های مجزا در سطح رویی برگ ها از اواخر خرداد ماه ظاهر شد (بهداد 1366، هالن و هولز 2001 و گادوری و همکاران 2011). فرنکل و همکاران (2010)

[1] . Flag shoots

گزارش کرده اند که زمستان گذرانی قارچ عامل بیماری سفیدک سطحی انگور بـه شـکل کلیستوتسـیوم پذیرفتـه نشـده و قـارچ عامـل بیمـاری بـه صـورت میسـلیوم در درون جوانه های در حال خواب انگور زمستان گـذرانی مـی کنـد. نتـایج بررسـی هـای سـه سـاله روی نقـش کلیستوتسیوم در زمستان گذرانی قارچ عامل بیماری *E. nectaor* در مشـگین شـهر بیـانگر آن بـود کـه کلیستوتسیوم ها در آخر فصل رویش به وفور در روی بـرگ هـا و شـاخه هـای انگـور تشـکیل ولـی کلیـه کلیستوتسـیوم هـای تشـکیل شـده در روی بـرگ هـا، دمبرگ ها و شاخه های انگور در طـی زمسـتان از بـین مـی رونـد و بـدین ترتیـب نقـش کلیستوتسـیوم هـا در زمستان گذرانی و بیمـاری زایـی قـارچ *E. nectaor* رد شد. در تحقیقات مختلفی از کلیستوتسیوم هـای موجـود در سطح برگ های آلوده که در باغ زمسـتان را سـپری کرده بودند برای اثبات بیماری زایی آنها اسـتفاده شـده است ولی عدم موفقیـت برخـی از ایـن تحقیقـات توسـط آسـکو سـپورها بـه اثبـات رسـیده اسـت (پیرسـون و گـادوری 1987، گـادوری و پیرسـون 1990 و فرنکـل و همکـاران 2010). نتـایج تحقیقـات سـه سـاله در مشگین شهر نشانگر همین مطلـب بـود و در آزمایشـات انجـام شـده بیمـاری زایـی آسکوسـپورها *E. nectaor* روی برگ های بریده انگور که بـا کلیستوتسـیوم هـای داخل کیسه هـای ململ و نگهـداری شـده در بـاغ تلقـیح شده بودند به اثبات نرسید. گادوری و پیرسـون (1988) ثابت کردند که در زمسـتان تمـامی کلیستوتسـیوم هـای موجود در سطح برگ های پوسیده قـدرت زنـده مانـدن خود را از دست دادند. نتایج بررسی های بعمل آمده در تاکستان های مورد بررسی با نتایج فوق مطابقت داشت و در بهـار از بـرگ هـای پوسـیده تاکسـتان هـای مشگین شهر هیچ آسکوکارپ زنده ای بدست نیامد. دلی و همکاران (1997) و بنـدزو- اوریبـه و آلـوارز (2012) مقاومـت بـه قـارچ کـش هـای DMI را در قـارچ عامـل بیماری سفیدک سطحی انگور گزارش کردند. بر اسـاس ایـن تحقیقـات در مرحلـه تولیـد مثـل جنسـی تغییـر در ساختار کروموزوم های قارچ عامل بیمـاری مـی توانـد نوترکیبی ژنتیکـی و ظهـور نژادهـای جدیـد در جمعیـت های قارچ عامـل بیمـاری را سـبب شـده و مقاومـت بـه قارچ کش ها را در جمعیت های اسپوری این قارچ فراهم کند. تحقیقات پوکوت و همکاران (2001) در مـورد نقـش تشـکیل چرخـه جنسـی در جمعیـت هـای قـارچ عامـل بیماری *E. nectaor* و ارتباط آن با پدیـده نـوترکیبی و شکسته شدن مقاومت گونه های مختلف انگور مؤیـد آن بود که در نقشـه ژنتیکـی ژنوتیـپ هـای مختلـف انگـور *Muscadinia rotundifolia* ژن مقاومـت Run1 بـه قارچ *E. nectaor* وجود دارد. بررسـی آنهـا نشـان داد در این مکان ژنی بروز نـوترکیبی در زمـان تولیـد مثـل جنسی امکان پذیر بوده و ممکن است قارچ عامل بیماری در مناطقی که به شکل جنسی زمستان گذرانی مـی کنـد با تولید نژادهای جدید واریته های متحمل را آلوده و بـه تاکستان ها خسارت شدید وارد نماید.

بررسـی اثـر شـرایط محیطـی در رهـا سـازی کنیدی های قارچ عامل بیمـاری *E. nectaor* بـر اسـاس آمار هواشناسی و یاداشت بـرداری لام هـای تلـه ای در طی سه سال نشان داد کـه در منطقـه مشـگین شـهر در اوایل خرداد ماه در آغاز رها سازی کنیـدی هـای قـارچ عامل بیماری متوسط دما بین 19- 16 درجه سلسـیوس و در دوران حداکثر رها سازی کنیدی ها متوسط دما به 25- 20 درجـه سلسـیوس رسـیده و بیشـترین میـزان کنیدی زایـی در 25 درجـه سلسـیوس و رطوبـت نسـبی 100- 40 درصد اتفاق افتاده و در دماهـای کمتـر از 20 درجه سلسیوس رها سازی کنیدی ها کاهش یافته است. اسپنسر (1978)، جارویس و همکـاران (2002)، وایـن و ویلکـوکس (2003)، دیـن گـرای (2008) و گـادوری و همکاران (2012) با انجام تحقیقـات مختلفـی نشـان داده اند که قارچ عامـل بیمـاری سـفیدک سـطحی انگـور بـا مساعد شدن شرایط محیطی شروع به فعالیـت نمـوده و در دمای 25-20 درجـه سلسـیوس فعالیـت آن افـزایش

یافتـه و در دمـای بـالای 35 درجـه سلسـیوس رشـد و فعالیت قارچ عامـل بیمـاری متوقـف شـده اسـت. نتـایج تحقیق حاضر بـا نتـایج تحقیقـات محققـان فـوق الـذکر مطابقت دارد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از آقایان دکتر نعمت سخندان بشـیر و دکتر مهدی ارزانلو اساتید محترم گروه گیـاه پزشـکی دانشـکده کشـاورزی دانشـگاه تبریـز بـه خـاطر همکاری های علمی و از آقای مهندس رمضان گنجـه بـه جهت مساعدت در پاره ای از امـورات جـاری صـمیمانه تشکر و قدردانی می نمایم.

منابع مورد استفاده

بابای اهری الف و هوشنگی الف، 1373. بیماری های درختان میوه و انگور (ترجمه). انتشارات دانشگاه ارومیه.

بهداد الف، 1366. آفات و بیماری های درختان و درختچه های جنگلی و گیاهان زینتی ایران. انتشارات نشاط اصفهان.

بنی هاشمی ض و پروین ش، 1374. مشاهده فرم جنسی *Uncinula necator* عامل سفیدک پودری مو در استان فـارس. مجله بیماری های گیاهی، جلد صد و دو، شماره 31، صفحه های 1 تا 3.

بی نام، 1388. آمار نامه کشاورزی ایران. اداره کل آمار و اطلاعات وزارت جهاد کشاورزی.

Bendezú-Euribe MV and Alvarez LA, 2012. The perfect stage of powdery mildew of grapevine caused by *Erysiphe necator* found in Peru. Plant Disease 96(5): 768-778.

Brunelli A, Cortesi P and Faretra F, 2004. Population biology of *Uncinula necator*. Research Program Year, University of Bari 23:234-245.

Carisse O, Bacon R, Lasnier J and Mcfadden-Smith W, 2006. Identification guide to the major diseases of grape. Cat. No. A. Agriculture and Agri-Food, Canada Publication.

Cortesi PM, Bisiach M, Ricciolin D and Gadoury DM, 1997. Cleistothecia of *Uncinula necator*-an additional source of inoculum in Italian vineyards. Plant Disease 81: 922-926.

Dean A and Gray G, 2008. Powdery mildew diseases, Oregon State University Extension. Plant Disease Control 101: 121-126.

Delp CL, 1954. Effect of temperature and humidity on the grape powdery mildew fungus. Phytopathology 44: 515-525.

Délye C, Laigret F and Corio-Costet MF, 1997. New tools for studying epidemiology and resistance of grape powdery mildew to DMI fungicides. Pesticide Science 51: 309-314.

Eichhorn KW and Lorenz DH, 1977. Phanologische entwicklungsstadien der rebe. Nachrichtenbl. Dtsch. Pflanzenschutzdienstes (Braunschweig) 29: 119-120.

Evants KJ, Whisson L and Scott ES, 1996. An experimental system for characterizing isolates of *Uncinula necator*. Mycological Research 100: 675-680.

Frenkel O, Brewer MT and Milgroom MG, 2010. Variation in pathogenicity and aggressiveness of *Erysiphe necator* from different *Vitis* spp. and geographic origins in the Eastern United States. Phytopathology 100(11): 1185-1193.

Gadoury DM, Cadle-Davidson L, Wilcox WF, Dry IB, Seem RC and Milgroom MG, 2011. Grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*): a fascinating system for the study of the biology, ecology and epidemiology of an obligate biotroph. Molecular Plant Pathology 99: 1143-1149.

Gadoury DM and Pearson RC, 1988. Initiation development, dispersal and survival of cleistothecia of *Uncinula necator* in New York vineyards. Phytopathology 78: 1413-1421.

Gadoury DM and Pearson RC, 1990. Germination of ascospores and infection of Vitis by *Uncinula necator*. Phytopathology 80: 1198-1203.

Gadoury DM, Seem RC, Pearson RC and Wilcox WF, 2001. Effects of powdery mildew on vine growth, yield and quality of Concord grapes. Plant Disease 85: 137-140.

Gadoury DM, Wakefield LM, Cadle-Davidson L, Dry IB and Seem RC, 2012. Effects of prior vegetative growth, inoculum density, light, and mating on conidiation of *Erysiphe necator*. Phytopathology 102(1): 65-72.

Gee L, Stummer BE, Gadoury DM, Biggins DL and Scott ES, 2000. Maturation of cleistothecia of *Uncinula necator* and release of ascospores in Australia. Australian Journal of Grape and Wine Research 6(1): 13-20.

Hallen F and Holz G, 2001. An overview of biology, epidemiology and control of *Uncinula necator* (powdery mildew) on grapevine, with reference to South Africa. South Africa Journal of Enolology and Viticulture 22(2): 147-154.

Jarvis W, Gubler W and Grove G, 2002. Epidemiology of powdery mildew in agricultural pathosystems, Pp. 169-199. In: Belanger R, Bushnell w, Dik A and Carver T (eds). The powdery mildew: A Comprehensive Treatise. APS Press, St. Paul, MN, USA.

Naumova NA, 1972. Testing of seeds for fungous and bacterial infections, Method of Phytopathological Examination of seeds. Yerusalam, Keter Press, Wiener Binding LTD.

Pauquet J, Bouquet A, This P and Adam-Blondon AF, 2001. Establishment of a local map of AFLP markers around the powdery mildew resistance gene Run1 in grapevine and assessment of their usefulness for marker assisted selection. Theoretical and Applied Genetics 103(8): 1201-1210.

Pearson RC and Gadoury DM, 1987. Cleistothecia, the source of primary inoculum for grape powdery mildew in New York. Phytopathology 77: 1509-1514.

Spencer DM, 1978. Powdery mildew of strawberries. Pp. 355 – 358. In: Spencer DM (eds). The powdery mildews. New York, USA, Academic Press.

Wayne F and Wilcox W, 2003. Grapevine powdery mildew *Uncinula necator*. Cornell University, Davis, Geneva.