

مطالعه برخی خصوصیات بیولوژیکی قارچ عامل بیماری سفیدک سطحی تاغ (*Leveillula saxaouli*) در استان خراسان

محمد حاجیان شهری^۱، غلامرضا حسینی بمرود^۲ و علیرضا کلانتری^۲

چکیده

بیماری سفیدک سطحی تاغ، (*Leveillula saxaouli* (Sorokin) Golovin) مهمترین بیماری گونه‌های درختچه تاغ (*Haloxylon spp.*) در استان خراسان و سایر نقاط کشور شناخته شده است. نتایج بدست آمده نشان داد که در بین جدایه‌های جمع‌آوری شده عامل بیماری از مناطق مختلف، اختلاف مورفولوژیکی زیادی وجود ندارد. شدت آلودگی میزبان در منطقه سبزوار ۳۷/۲۲ درصد و در منطقه گناباد ۱۴ درصد بود. وجود عامل بیماری در دو منطقه تنها روی گونه‌های مختلف تاغ محرز گردید و اولین علائم بیماری در نیمه اول اردیبهشت ماه مشاهده شد. بیشترین تعداد کنیدی شکار شده روی لام‌های میکروسکوپی از ابتدای خرداد ماه ۱۳۷۷ تا انتهای آبانماه ۱۳۷۷ در منطقه گناباد، به ترتیب در هفته دوم تیرماه با میانگین ۱۲۵/۷۹ عدد کنیدی و کمترین تعداد کنیدی شکار شده با میانگین ۰/۵۹ کنیدی در انتهای آبانماه در هرساتیمتر مربع سطح لام شمارش شد. در منطقه سبزوار، بیشترین تعداد کنیدی ۵۱/۵ عدد در هفته دوم تیرماه و کمترین تعداد کنیدی در انتهای آبانماه با میانگین ۰/۷۴ عدد کنیدی در هر سانتیمتر مربع سطح لام بود.

واژه‌های کلیدی: تاغ، سفیدک سطحی تاغ، کلیستوتسیوم، کنیدی، آسکوسپور

۱- مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان، مشهد، صندوق پستی ۱۱۴۸ - ۹۱۷۳۵ (مکاتبه کننده):

نگارنده اول). E-mail: m/haj52570@yahoo.com

۲- کارشناسان مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان. مشهد، صندوق پستی: ۱۱۴۸ - ۹۱۷۳۵

تاریخ پذیرش: دی ماه ۱۳۸۲

تاریخ دریافت: مهرماه ۱۳۸۱

مقدمه

امروزه درمورد قارچهای مولد سفیدک سطحی از نقطه نظر رده‌بندی، بیولوژی، بیماری‌شناسی گیاهی و طبیعت بیماریزایی این عوامل بیماریزا روی گیاهان نهان دانه، مطالعات زیادی انجام می‌شود. همچنین در مورد جنبه‌های گوناگون سفیدکهای سطحی همانند بیوشیمی، ژنتیک، اپیدمیولوژی و کنترل آنها تحقیقات زیادی انجام می‌گیرد (Hirata, 1986).

سطح تاغزارهای استان خراسان بالغ بر ۷۷۰,۰۰۰ هکتار می‌باشد (بی‌نام، ۱۳۷۵). این گیاه کویری در تثبیت شنهای روان و جلوگیری از بیابان‌زایی در مناطق کویری کشور از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. بیماری سفیدک سطحی تاغ که یکی از مهمترین بیماریهای این گیاه می‌باشد، در اثر قارچ *Leveillula saxaouli* (Sorokin) Golovin ایجاد می‌شود. هم‌اکنون این بیماری از کشورهای ترکمنستان، قزاقستان، روسیه، ازبکستان و ایران گزارش شده است. در ایران این بیماری برای اولین بار از کاشان توسط ارشاد در سال ۱۳۷۴ گزارش شده است (ارشاد، ۱۳۷۴). در همین مورد مطالعه حاضر دربارهٔ بیماری سفیدک سطحی تاغ با هدف بررسی برخی خصوصیات بیولوژیکی این قارچ در استان خراسان انجام گرفت.

مواد و روشها

شناسایی قارچ عامل بیماری: برای شناسایی قارچ عامل بیماری نمونه‌هایی از سرشاخه‌های تاغ آلوده به عامل بیماری از تاغزارهای شهرستان گناباد شامل نواحی (بیمرغ، بجستان، عمرانی، قوژد و نوده پشنگ) و سبزوار شامل نواحی (یحیی‌آباد، کلاته میرعلی) جمع‌آوری شدند. شناسایی عامل بیماری براساس نوشته‌های براون (Braun, 1987) انجام گرفت. بدین منظور ابعاد میکروسکوپی یکصد عدد کنیدی، آسک،

آسکوسپور و آسکوکارپ از نواحی فوق با میکروسکوپ مدرج و در محلول لاکتوفنل-کاتن بلو اندازه‌گیری شد.

بررسی دامنه میزبانی عامل بیماری: به منظور تعیین دامنه میزبانی عامل بیماری در طی سالهای ۷۷ - ۱۳۷۶ از کلیه گیاهان موجود در سطح زیر اشکوب تاغزارهای مناطق مورد مطالعه که دارای علائم سفیدک سطحی بودند نمونه‌برداری شد و نمونه‌های جمع‌آوری شده براساس کلید شناسایی قارچهای مولد سفیدک سطحی (Braun, 1987) ارزیابی و شناسایی شدند و بر این اساس دامنه میزبانی عامل بیماری در این مناطق تعیین گردید.

بررسی ارتباط هیستوپاتولوژیکی عامل بیماری و میزبان: ارتباط هیستوپاتولوژیکی عامل بیماری و میزبان براساس روش شیپتون و براون (Shipton & Brown, 1962) تعیین گردید. براساس این روش ابتدا برشهای عرضی بسیار نازک از برگهای آلوده تاغ به بیماری تهیه گردید و بلافاصله در محلول لاکتوفنل-کاتن بلو الکلی (یک قسمت لاکتوفنل-کاتن بلو با دو قسمت الکل ۹۵ درصد) فرو برده شدند. نمونه‌ها به مدت یک دقیقه به آهستگی جوشانده شده و بعد از سرد شدن به مدت ۳۰ ثانیه دیگر جوشانده شدند. سپس محلول فوق همراه با برشهای برگی به مدت ۴۸ ساعت در شرایط آزمایشگاه نگهداری و پس از آن با آب مقطر چند بار شستشو داده و به مدت ۴۵ دقیقه در کلرال هیدرات (کلرال هیدرات ۵ گرم در دو میلی‌لیتر آب مقطر) نگهداری شدند. از این برشهای برگهای آلوده و رنگ‌آمیزی شده در گلیسرین ۰.۵٪، اسلاید میکروسکوپی تهیه شد.

تعیین زمان ظهور بیماری: در مناطق مختلف گناباد و سبزوار براساس فنولوژی میزبان با شروع فعالیت مجدد رویشی از نیمه فروردین ماه سال ۱۳۷۷، هر دو هفته یکبار نمونه‌برداری از برگهای جوان سرشاخه انجام گرفت. سرشاخه‌ها و برگهای جمع‌آوری

شده زیر بینوکولر به منظور دیدن آثار قارچ عامل بیماری تحت بررسی قرار گرفت و زمان ظهور بیماری در هر شهرستان تعیین گردید.

تغییرات جمعیت کنیدی عامل بیماری: اندازه‌گیری تغییرات جمعیت کنیدیهای آزاد شده قارچ عامل بیماری براساس روش خیری و پریس (Khairi & Preece, 1978) در مناطق نوده پشنگ (گناباد) و یحیی‌آباد (سبزوار) انجام گرفت. ابتدا در منطقه‌ای به وسعت حدود هزار مترمربع، ۴ عدد درختچه تاغ آلوده به بیماری به صورت تصادفی انتخاب شدند و در میان شاخه و برگهای آنها ۵ عدد لام میکروسکوپی که یک سطح آنها آلوده به روغن وازلین شده بود، به منظور شکار کنیدی‌های آزاد شده تعبیه گردید. هر هفته یکبار لامها تعویض می شدند و کنیدیهای آزاد شده در زیر میکروسکپ و در وسعت یک لام 18×18 میلیمتری پس از رنگ‌آمیزی با محلول ۱ درصد کاتن بلو- لاکتوفنل شمارش و تغییرات جمعیت آنها از نیمه اول خردادماه تا اواخر مهرماه ۱۳۷۷ اندازه‌گیری شد.

تعیین زمان تشکیل و بلوغ آسکوکارپ عامل بیماری: برای این کار از روش پیرسون و گادوری (Pearson & Gadoury, 1987) استفاده شد. براساس این روش شاخه و برگهای آلوده تاغ به بیماری در طی سالهای ۱۳۷۶ و ۱۳۷۷ از اوایل مردادماه تا انتهای آذرماه هر سال و در فواصل دو هفته‌ای در دو منطقه بیمرغ (گناباد) و یحیی‌آباد (سبزوار) نمونه‌برداری و به آزمایشگاه منتقل شدند و در زیر بینوکولر وجود آسکوکارپهای اولیه و مراحل تکامل آنها از لحاظ حضور آسک و آسکوسپورها مورد ارزیابی قرار گرفت.

اندازه‌گیری شدت آلودگی بیماری: شدت آلودگی بیماری براساس روش هورس فال (Horsfall & Barratt, 1945; Horsfall & Cowling, 1978) در دو منطقه سبزوار (یحیی‌آباد) و گناباد (بیمرغ) به شکل زیر انجام گرفت. در اواخر شهریورماه ۱۳۷۷ از یک نقطه تصادفی تاغزار در چهار جهت اصلی جغرافیایی به طول ۱۰۰ متر حرکت کرده

و تعداد ده عدد درختچه تاغ به صورت تصادفی انتخاب و از چهار طرف این درختچه‌ها تعداد ده عدد برگ برداشت گردید و شدت آلودگی آنها در آزمایشگاه براساس درجات آلودگی صفر، ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ به ترتیب برای شدت آلودگی صفر، ۱۰ - ۱ درصد، ۲۵ - ۱۱ درصد، ۵۵ - ۲۶ درصد، ۷۵ - ۵۶ و ۱۰۰ - ۷۶ درصد تعیین و براساس فرمول زیر ارزیابی گردیدند:

درجه آلودگی مربوطه \times تعداد برگهای ارزیابی شده در هر درجه آلودگی

= شدت بیماری

تعداد کل برگهای ارزیابی شده

نتیجه و بحث

براساس مشخصات شکل‌شناسی و اندازه‌گیری مورفومتریکی اندامهای مختلف قارچ عامل بیماری، در مجموع در شش منطقه در دو شهرستان سبزوار و گناباد که در جدول شماره ۱ آمده است عامل بیماری سفیدک سطحی تاغ در استان خراسان شناسایی شد. میسلیم روی برگها یا در هر دو سطح برگها، به خوبی توسعه یافته، به صورت لکه‌های متراکم پوشیده بود. کندیها کم و بیش سیلندری با حلقه‌های *cingulum* نزدیک به دو انتها به ابعاد $۳۷-۶۷ \times ۱۲-۲۴$ میکرومتر و کندیوفور ساده یا منشعب به ابعاد $۵۵-۱۰۰ \times ۴-۶/۵$ میکرومتر اندازه‌گیری شد (شکل شماره ۱). کلیستوتسیوم مجتمع یا منفرد، اغلب فرورفته در توده میسلیم به ابعاد $۶۰-۲۱۰ \times ۶۴-۲۲۰$ میکرومتر بود. سلولهای تشکیل دهنده دیواره آسکوکارپ مشخص به شکل نامنظم و به ابعاد حدود $۱۰-۲۰$ میکرومتر و زوائد اطراف آسکوکارپها میسلیمی شکل، روشن تا کمی تیره، دیواره‌دار، صاف تا زبر با عرض $۴-۱۰$ میکرومتر و ساده یا با انشعابهای نامنظم بودند، آسکها متعدد، بیشتر از ۲۰ عدد در هر آسکوکارپ، پایه‌دار به ابعاد $۱۳-۶۳ \times ۴۸-۲۵$ میکرومتر و هر کدام حاوی دو آسکوسپور که آسکوسپورها بیضوی تا تخم‌مرغی شکل به ابعاد $۱۵-۲۵ \times ۲۲-$

مورفولوژیکی مندرج در جدول شماره ۱ و براساس نوشته‌های براون (Broun, 1987) عامل بیماری در استان خراسان *Leveillula saxaouli* (Sorok) Golovin شناسایی شد. در بررسی ارتباط هیستوپاتولوژیکی عامل بیماری - میزبان مشخص گردید. هوستوریوم یا مکینه‌های قارچ عامل بیماری اغلب از هیفهای داخلی منشاء می‌گیرند و در بافتهای داخلی تر برگ مانند مزوفیل یا پارانشیم نردبانی تشکیل می‌شوند. در این بررسی معلوم گردید که هوستوریومها اغلب کروی یا گلابی شکل می‌باشند و از ردیفهای بین سلولی قارچ منشاء می‌گیرند. بلومر و بوزوینکل (Blumer, 1967; Boesewinkel, 1980) نیز شکل مکینه را در این جنس کروی یا گلابی شکل گزارش می‌کنند که با نتایج این بررسی مشابه است. براساس بررسی‌های انجام شده هیفهای بین سلولی قارچ عامل بیماری بیرنگ است که پس از رنگ‌آمیزی با کاتن بلو - لاکتوفنل به رنگ آبی در می‌آیند. اگر چه برخی از گونه‌های *Leveillula* اغلب تولید میسلیمهای متراکم لکه مانندی می‌کنند که تمام سطح برگ را می‌پوشانند و تحت شرایط خاص، میسلیم خارجی می‌تواند تحت تأثیر گرما یا عوامل اپیدرمی برگ میزبان به برگهای میزبان رخنه کند (Jarvis, 1964). اما هوستوریوم یا مکینه‌های قارچ عامل بیماری اغلب از هیفهای داخلی منشاء می‌گیرند و در بافتهای داخلی تر برگ مانند مزوفیل یا پارانشیم نردبانی تشکیل می‌شوند. در این بررسی معلوم گردید که هوستوریومها اغلب کروی یا گلابی شکل می‌باشند و از هیفهای بین سلولی قارچ منشاء می‌گیرند (شکل شماره ۲).

جدول شماره ۱- ابعاد مورفومتریکی اندامهای مختلف قارچ عامل بیماری سفیدک پودری تاغ.

منطقه	اسکوپ (μm)	اسک (μm)	اسکوسپور (μm)	کنیدی (μm)
سردق بجنستان	۱۲۰-۲۰۰×۱۲۸-۲۱۰	۱۰۸× ۲۵-۴۵ ۶۳	۱۵-۲۵×۲۲-۴۴	۱۲-۲۰×۴۱-۶۰
نوده پشنگ	۱۲۰-۲۱۰×۱۴۰-۲۲۰	۳۰-۴۷×۸۰-۱۱۳	۱۸-۲۴×۲۴-۴۱	۱۶-۲۳×۴۲-۶۰
عمرانی	۱۲۰-۱۹۰×۱۲۵-۲۰۰	۳۲-۴۸×۸۸-۱۰۸	۱۹-۲۵×۳۰-۴۵	۱۵-۲۱×۴۳-۶۷
قوزد	۸۰-۱۷۰×۷۵-۱۹۰	۳۲-۴۸×۸۸-۱۰۸	۱۸-۲۴×۳۱-۵۰	۱۴-۲۴×۳۸-۶۰
یحیی آبادسبزوار	۱۰۰-۱۸۰×۹۰-۱۷۰	۳۰-۴۵×۷۸-۱۰۰	۱۵-۲۲×۲۸-۴۰	۱۵-۲۰×۳۷-۶۴
کلاته میر علی	۶۰-۱۷۲×۶۴-۱۸۶	۲۵-۴۰×۷۳-۱۰۵	۱۷-۲۴×۲۵-۴۱	۱۲-۲۰×۴۱-۵۶

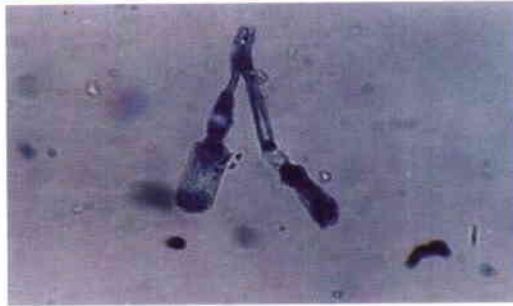
تغییرات هفتگی جمعیت کنیدی *L. saxaouli* در فضای بین شاخه‌های آلوده بوته‌های تاغ از خردادماه ۱۳۷۷ تا اواخر آبانماه همان سال در شکل شماره ۴ در منطقه یحیی آباد سبزوار و شکل شماره ۵ در منطقه نوده پشنگ (گناباد) نشان داده شده است. اولین کنیدی به دام افتاده در منطقه نوده پشنگ گناباد در هفته دوم خرداد ماه و در منطقه یحیی آباد (سبزوار) در هفته دوم تیرماه بود. در منطقه نوده پشنگ گناباد بیشترین تعداد کنیدی ثبت شده با میانگین $125/79$ عدد کنیدی و کمترین تعداد کنیدی شکار شده با میانگین $0/59$ کنیدی در اواخر آبانماه در هر سانتیمتر مربع سطح لام میکروسکوپی بود. در منطقه یحیی آباد سبزوار، بیشترین تعداد کنیدی شکار شده در نیمه تیرماه و کمترین آن در انتهای آبانماه به ترتیب با میانگین $51/5$ و $0/74$ کنیدی در هر سانتیمتر مربع لام میکروسکوپی اندازه‌گیری شد. از هفته سوم مهرماه در هر دو منطقه تعداد کنیدیهای به دام افتاده در منطقه یحیی آباد و در منطقه نوده پشنگ به تدریج کاهش یافته و در اواخر آبانماه به حداقل خود می‌رسد. براساس نمونه‌برداری مرتب در فواصل هفتگی از شروع فعالیت درختچه‌های تاغ در دو منطقه علائم بیماری به شکل کلنی‌های کوچکی شامل هیفهای ظریف و کنیدیوفورهای دو شاخه قارچ عامل بیماری در زیر بینوکولر در هفته دوم اردیبهشت ماه مشاهده شدند.

کلیستوتسیومهای جوان و نابالغ عامل بیماری به راحتی روی برگهای آلوده تاغ از اواخر مردادماه دیده می‌شوند. کلیستوتسیومهای کاملاً بالغ و رشد یافته از نظر مورفولوژی سیاه رنگ بوده و زوائد نسبتاً بلندی در اطراف خود دارند و روی سطح برگها، از نیمه شهریور ماه به بعد یافت می‌شوند، تعداد آنها در سطح برگهای کاملاً پوشیده شده با میسلیم بیشتر می‌باشد. براساس ارزیابی به عمل آمده تعداد کلیستوتسیومهای شمارش شده در انتهای آبانماه به طور متوسط $45/56$ در یحیی آباد سبزوار و $47/62$ عدد در منطقه نوده پشنگ گناباد در هر سانتیمتر طول برگ بود.

براون (Braun, 1987) گونه‌های گیاهی متعلق به جنسهای *Salsola Aellenia*، *Haloxylon* و *Arthrophytum Sympegma* را به عنوان میزبانهای مختلف این قارچ معرفی می‌کند. در جمع‌آوری گیاهان آلوده به عوامل مولد سفیدک سطحی از گیاهان زیر اشکوب تاغزارهای دو منطقه تنها گونه‌های تاغ به عنوان میزبان این قارچ در استان خراسان معرفی می‌شوند و به رغم وجود گونه‌های *Salsola spp.* در این مناطق هیچ نمونه آلوده به سفیدک سطحی مربوط به این گونه‌ها در این مناطق جمع‌آوری نشد. پس از بررسی میزان آلودگی یکصد برگ جمع‌آوری شده از منطقه یحیی آباد سبزوار، ۵۲ برگ دارای درجه آلودگی صفر، ۵ برگ دارای درجه آلودگی دو، ۵ برگ دارای درجه آلودگی سه، ۹ برگ دارای درجه آلودگی چهار و ۲۱ برگ دارای آلودگی ۵ و ۸ برگ دارای درجه آلودگی یک بودند که در نتیجه شدت آلودگی بیماری در منطقه یحیی آباد ۲۲/۳۷ درصد اندازه‌گیری شد. در منطقه نوده پشنگ گناباد از مجموع یکصد برگ تحت بررسی ۶۱ برگ دارای درجه آلودگی صفر، ۱۲ برگ دارای درجه آلودگی یک، ۵ برگ دارای درجه آلودگی دو، ۷ برگ دارای درجه آلودگی سه، ۶ برگ دارای درجه آلودگی چهار و ۹ برگ دارای درجه آلودگی ۵ بودند. براین اساس شدت آلودگی بیماری در منطقه گناباد ۱۴ درصد تعیین گردید.

سپاسگزاری

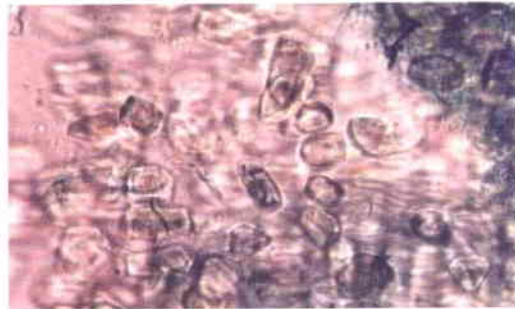
از مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع و مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان که امکان اجرای تحقیق حاضر را فراهم نمودند سپاسگزاری می‌شود.



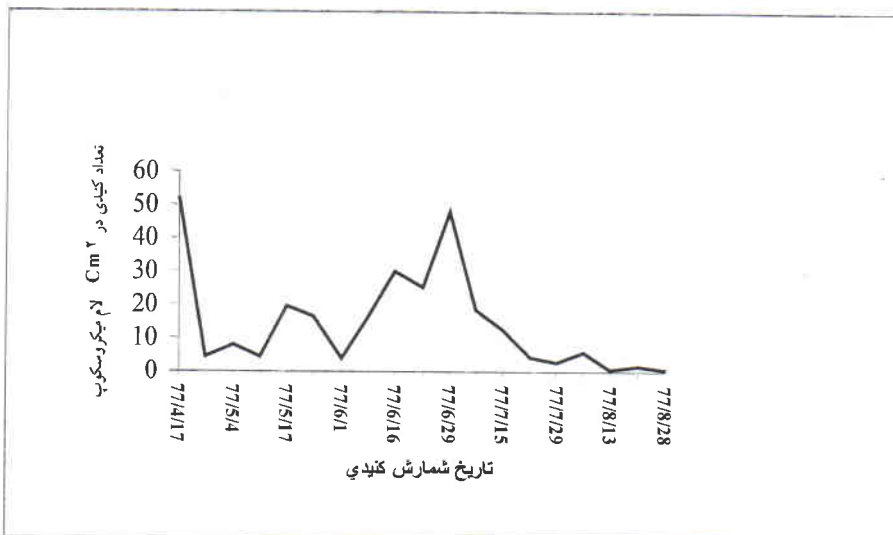
شکل شماره ۱- کنیدی و کنیدیوفور *Leveillula saxaouli* (درشتنمایی ۸۹۰ برابر).



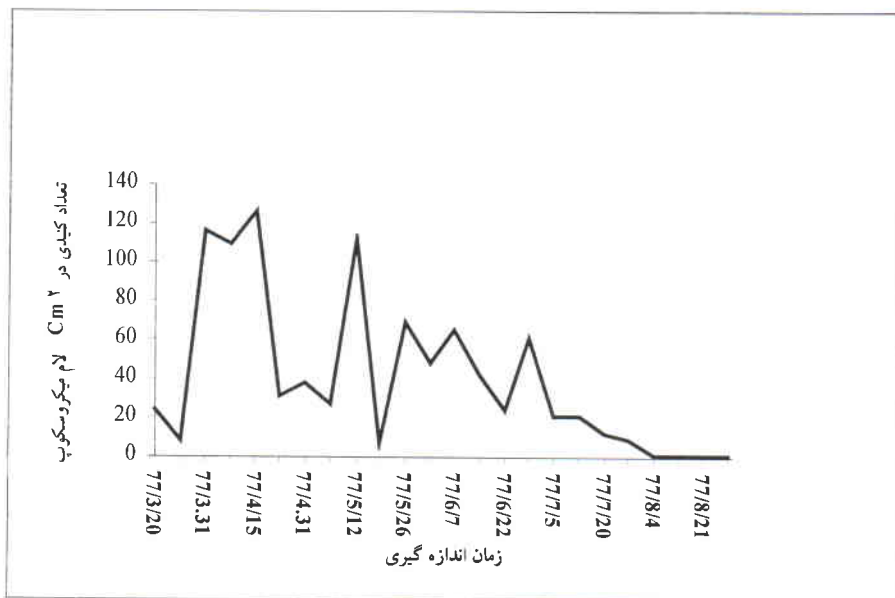
شکل شماره ۲- آسک و آسکوسپور *Leveillula saxaouli* (درشتنمایی ۸۹۰ برابر).



شکل شماره ۳- هیف درونی و هوستوریم *Leveillula saxaouli* دربین بافتهای برگ
تاغ (درشتنمایی ۸۹۰ برابر).



شکل شماره ۴- تغییرات هفتگی جمعیت کنیدی (یحیی آباد) سبزوار.



شکل شماره ۵- تغییرات هفتگی جمعیت کنیدی (نوده پشنگ) گناباد.

منابع مورد استفاده

- ۱- ارشاد، ج.، ۱۳۷۴. قارچهای ایران. انتشارات سازمان تحقیقات و آموزش وزارت کشاورزی، ۷۴۰ صفحه.
- ۲- بی‌نام، ۱۳۷۵. آمارنامه اداره تثبیت شن و کویرزدایی اداره کل منابع طبیعی استان خراسان، ۴۷ صفحه.
- 3- Blumer, S., 1967. Echte Mehltapilze (Erysiphaceae). Gustav. Ber. Verlag, Jena. Germany, 483 pp.
- 4- Boesewinkel, H. J., 1980. Morphology of the imperfect states of powdery mildews. Botanical Review, 46: 167-224.
- 5- Braun, U., 1987. A monograph of the Erysiphales. Beih. Nova Hedwigia, 89: 1-700.
- 6- Hirata, K., 1986. Host range and geographical distribution of the powdery mildew fungi, 2nd. Japan Science Society, Tokyo. 386 pp.
- 7- Horsfall, J. B. and Barratt, R W., 1945. An improved grading system for measuring plant diseases (Abstr). Phytopathology, 35: 655.
- 8- Horsfall, J. B. and Cowling, E. B., 1978. Pathometry: The measurement of plant diseases. 119-136, In: Plant diseases, an advanced treatise. Vol. II. How diseases develops in populations. Horsfall, J. G. and Cowling, E. B., (eds.) Academic Press, NewYork, 646 pp.
- 9- Khairi, S. M. and Preece, T. F., 1978. Hawthorn powdery mildew: Diurnal and seasonal distribution of conidia in air near infected plants. Trans. Br. Mycol. Soc., 71 (3): 393-397.
- 10- Pearson, R. C. and Gadoury, D. M., 1987. Cleistothecia, the source of primary inoculum for grape powdery mildew in New York. Phytopathology, 77 (11): 1509-1514.
- 11- Shipton, W. A. and Brown, J. E., 1962. A whole leaf clearing and staining technique to demonstrate host-pathogen relationship of wheat stem rust. Phytopathology, 52: p. 1313.

