مطالعه بیماری سفیدک پودری در یونجه‌های کا شته شده در عرصه‌های منابع طبیعی اطراف شهرستان بروجرد

کرم سپه وند

نویسنده مسوول:کارشناس ارشد بخش تحقیقات منابع طبیعی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان لرستان

تاریخ دریافت: ۹۱/۰۸/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۳/۰۹/۱۶

چکیده

به منظور مطالعه بیماری سفیدک پودری در اراضی یونجه کاشته شده در عرصه‌های منابع طبیعی اطراف شهرستان بروجرد از استان لرستان بررسی‌هایی شامل شناسایی قارچ بیمارگر، برآورد شدت بیماری، آزمایش اثبات نقش آسکوسپور به عنوان مایه اولیه آلوده کننده، بررسی درصد جوانه‌زنی کنیدی‌های قارچ عامل بیماری، آنالیز شیمیایی گیاهان سالم و آلوده، بررسی نحوه زمستان گذرانی عامل بیماری و مطالعه ارتباط فنولوژی گیاه میزبان با مراحل رشدی قارچ انجام شد. با بررسی و ثبت مشخصات قارچ بیمارگر، گونه *Leveillula taurica* (Lev.) Arnaud تشخیص داده شد. میانگین شدت بیماری حدود ۱۲/۱۳ درصد در سطح رویی و ۳۹/۳۲ درصد در سطح زیری برگ برآورد شد. همچنین بین شدت بیماری در سطح رویی و زیرین برگ همبستگی مثبت و معنی داری وجود داشت (r=46.4 و p<.01). باز شدن چاسموتسیوم‌ها و آزاد شدن آسک و آسکوسپورها از چند ماه قبل تا زمان آلودگی سیر صعودی داشت و احتمال نقش آسکوسپورها در آلودگی اولیه وجود داشت که با آزمایش اثبات نقش آسکوسپور به عنوان ماده اولیه آلوده کننده مشخص شد که آسکوسپور یکی از عوامل آلودگی سال جدید است. همچنین مشخص شد که بهترین دما و زمان برای جوانه‌زنی کنیدی‌ها دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و زمان ٤٨ ساعت بود و بین سه دمای ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درجه سلسیوس از لحاظ آماری تفاوت معنی داری وجود نداشت (P<0.01). از تجزیه گیاهان سالم و آلوده به سفیدک پودری مشخص شد که بین درصد ماده خشک گیاهان سالم و آلوده و چربی خام گیاهان سالم و آلوده اختلاف معنی دار مشاهده نشد. اما بین درصد پروتیین خام، فیبر خام و خاکستردرگیاه سالم و آلوده اختلاف معنی دار مشاهده شد (P<0.05 و df=7). رشد قارچ روی گیاه در نیمه دوم خرداد همزمان با مرحله رشد سبزینه‌ای گیاه (با میانگین ارتفاع ۵۵/۲۵ سانتی‌متر) مشاهده شد. مرحله جنسی بیمارگر در نیمه دوم شهریور ماه و در مرحله ریزش بذر گیاه تکمیل شد.

کلید واژه‌ها: سفیدک پودری، یونجه، عرصه‌های منابع طبیعی و بروجرد

مقدمه

گیاه یونجه ۳۴ گونه یک ساله و ۵۲ گونه چند ساله دارد و از مهمترین گیاهان علوفه‌ایی مرتعی و زراعی تیره بقولات است (اسمال و جامف[1]، ۱۹۸۹). گونه‌های این جنس عمدتا" در نواحی معتدله و نیمه گرمسیری پراکنده شده‌اند. سطح زیر کشت یونجه در جهان حدود ۳۳ میلیون هکتار است. گیاه یونجه به طور طبیعی در اروپا و آسیا کاشته می‌شود و زیستگاه آن دامنه کوه‌ها و دره‌ها و اغلب کاشته شده در مزارع است (قنواتی،۱۳۸۹). یونجه کاشته شده بومی قفقاز، شمال

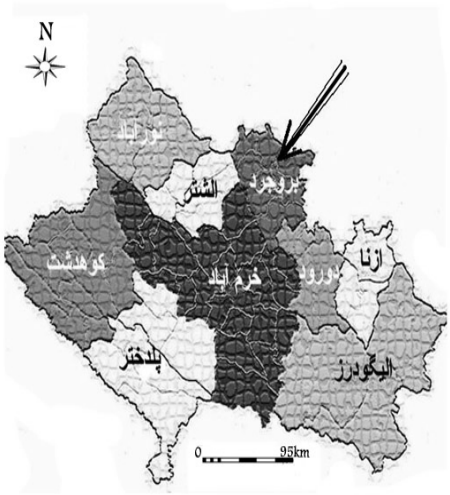
1- Small & Jomphe

شرقی ترکیه و شمال غربی ایران بوده است (ناصری و معرفت[1]، ۲۰۰۸). این گیاه در استان لرستان و شهرستان بروجرد در زمین‌های کشاورزی و عرصه‌های منابع طبیعی کشت می‌شود. همچنین علاوه بر گونه *Medicago sativa* L. گونه‌های دیگری از این گیاه از جمله گونه‌های یونجه یکساله در مراتع استان لرستان پراکنده است که در آنها نیز آلودگی به سفیدک پودری مشاهده شده است. این گیاه ارزش غذایی بالایی دارد و می‌تواند به راحتی توسط حیوانات اهلی مصرف شود (السی و همکاران[2]،۱۹۹۴). عوامل زنده و غیر زنده مختلفی می‌توانند تولید گیاه یونجه را تحت تاثیر قرار دهند (گراهام و همکاران[3]، ۱۹۷۹). بنابراین لازم است که این عوامل شناخته شده و بررسی‌هایی روی آنها انجام شود. بعضی از بیماری‌های برگی مثل *Fusarium* spp. و *Alternaria* spp. می‌توانند کیفیت علوفه را در این گیاه با تولید مایکوتوکسین‌ها کاهش دهند (اسکیودامور و لایوسی[4]، ۱۹۹۸). دراسترالیا بیماری‌های برگی در مزارعی که قارچ‌کش استفاده نشده است، باعث کاهش علوفه یونجه به میزان ۱۶-۲۰ درصد، کاهش بذر تا ۳۷ درصد و کاهش وزن بذر حدود ۷ -۱۳ درصد شده‌اند (باربتی[5]، ۱۹۹۵). در آمریکا تا ۴۰ درصد کاهش محصول در یونجه در اثر بیماری‌های برگی گزارش شده است (ناتر و همکاران[6]، ۲۰۰۲). یکی از بیماری‌های برگی گیاه یونجه سفیدک پودری است. این بیماری باعث آسیب به بذر و برگ در اغلب نقاط ایران می‌شود (ناصری و معرفت، ۲۰۰۸). مهمترین گونه قارچ عامل سفیدک پودری در یونجه *Leveillula taurica* (Lev.) Arnaud گزارش شده است که در دنیا به طور گسترده‌ای در مناطق گرم تر و خشک جهان، مناطق مدیترانه‌ای، قسمت‌های جنوبی اروپا و از پرتقال تا اوکراین، مناطق آسیای صغیر، تمام آسیای مرکزی از مغولستان، چین، تایوان، ژاپن، پاکستان، اقیانوسیه، آفریقا، آمریکا (قسمت جنوبی آمریکا و آمریکای مرکزی) روی گیاهان زیادی انتشار دارد (براون[7]، ۱۹۸۷). در بررسی که در دانشگاه آنکارا روی یونجه‌های کاشته شده در این دانشگاه انجام شده قارچ *L. taurica* جزء ۱۰ بیماری قارچی مهم جدا شده از این گیاه بوده است (سایگدم اونار و کاراکایا[8]، ۲۰۰۶). ریسه‌های این قارچ از طریق روزنه‌های هوائی وارد بافت میزبان شده و بین سلول‌های مزوفیلی گسترش می‌یابند و مکینه‌هایی در سلول‌های مزوفیل تشکیل می‌دهد. زمستان گذرانی قارچ می‌تواند با آسکوکارپ و یا مسیلیوم در درون بعضی میزبان‌ها انجام شود.

مواد و روش‌ها

برای انجام این تحقیق مناطقی از اطراف شهرستان بروجرد (شکل ۱) شامل اطراف قلعه ثمور خان از دهستان والانجرد با موقعیت متوسط N ´۵۳،°۳۳ و E۵۷،°۴۸ و ارتفاع متوسط ۲۳۴۰ متر، منطقه ونایی با موقعیت N ´۵۵،°۳۳ و E ´۳۶،°۴۸ وارتفاع ۲۳۶۰ متر، اطراف قلعه حاتم با موقعیت N´۵۵،°۳۳ و E ´۴۰،°۴۸ وارتفاع ۱۸۸۲ متر، روستای چم صیدی سفلی با موقعیت N ´۴۶،°۳۳ وE ´۴۲،°۴۸و ارتفاع ۱۷۰۵ متر، اطراف روستای پاپولک با موقعیت N´۴۶،°۳۳ و E ´۴۵،°۴۸ و ارتفاع ۱۷۵۹ متر، بین روستای رابند علیا و سفلی با موقعیت N´۴۶،°۳۳ و E ۳۹،°۴۸ و ارتفاع ۱۷۴۶ متر، *روستای رابند علیا* با موقعیت N´۴۶،°۳۳ و E´۳۸،°۴۸ و ارتفاع۱۷۴۹ متر، و اطراف روستای آبسرده با موقعیت N ´۴۶،°۳۳ و E ´۳۷،°۴۸ و ارتفاع ۱۸۳۱ متر از سطح دریا انتخاب شد و کارهایی به شرح ذیل رو ی این گیاه و بیمارگر آن انجام شد.

1- Naseri & Marefat
2- Elçi *et al.*
3- Graham *et al.*
4- Scudamore & Livesey
5- Barbetti
6- Nutter *et al.*
7- Braun
8- Ciğdem Onar & Karakaya



شکل ۱- موقعیت شهرستان بروجرد در استان لرستان

- **شناسایی گونه قارچ عامل بیماری:** روی گیاهان بیمار بین ۱۰۰-۵۰ عدد از اندام‌های قارچی شامل چاسموتسیوم، آسک، آسکوسپور و کنیدی اندازه‌گیری شد و تمام مشخصات ریخت شناسی این اندام‌ها ضمن مشاهده زیر میکروسکوپ یادداشت شد و شکل اندام‌های قارچی آنها نیز با دستگاه لوله رسم ترسیم شد و در نهایت با کلید شناسایی سفیدک‌های پودری (براون، ۱۹۸) شناسایی شدند. همچنین وجود این قارچ روی میزبان‌های مرتعی هم بررسی شد.

- **برآورد شدت بیماری:** این کار بر اساس روش هورسفال (هورسفال و کاولینگ[1]، ۱۹۷۸ و هورسفال و بارت[2]، ۱۹۴۵) انجام شد. در زمان کامل شدن فرم جنسی سفیدک پودری در هر منطقه مربوطه در چهار جهت جغرافیایی حرکت کرده و به صورت تصادفی ۱۰۰ عدد برگ انتخاب و شدت آلودگی برگ به قارچ را به صورت درصد جداگانه یادداشت کرده وبا استفاده از آزمون t تست جفت شده بررسی شدند.

- **بررسی میزان جوانه‌زنی کنیدی‌ها :** این کار بر اساس روش دوارد[3] انجام شد. برای انجام این بررسی داخل ظروف تشتک پتری سترون که در کف آنها کاغذ صافی سترون قرار داده و محیط آن با آب مقطر کاملاً مرطوب شده بود، یک عدد لام گذاشته شد. سپس مقداری از کنیدی‌های قارچ مذکور را روی لام داخل پتری‌دیش قرار داده و در دماهای ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و مدت زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و برای هر ترکیب دما – زمان، سه اسلاید میکروسکپی به عنوان سه تکرار تهیه کرده و میزان کنیدی‌های جوانه زده و جوانه نزده زیر میکروسکوپ بررسی شد. این آزمایش در قالب طرح فاکتوریل، و سطوح معنی‌دار جوانه‌زنی آنها در سطح ۱ درصد بررسی شد.

- **آزمایش اثبات نقش آسکوسپور به عنوان ماده اولیه آلوده کننده:** داخل ظرف پتری حاوی کمی آب مقطر استریل، ۲۰ قطعه دو سانتی‌متری از برگ‌های گیاهان آلوده به بیماری و دارای آسکوکارپ‌های قارچ بیمارگر قرار داده و به مدت ۹ ساعت در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری شدند. سپس ۱۰۰ قطعه دو سانتی‌متری سالم و عاری از آلودگی برگ یونجه را جداکرده و پس از ضد عفونی با محلول هیپوکلرید سدیم یک درصد به مدت دو دقیقه، در درپوش ظروف تشتک پتری فوق، روی کاغذ صافی مرطوب سترون وارونه قرار داده شدند. دور تشتک‌های پتری با نوار پارافیلم بسته شد. پتری‌دیش فوق همراه با یک پتری‌دیش شاهد به مدت ۱۰ روز در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد با دوره نوری ۱۶ ساعت در ژرمیناتور نگهداری شدند. سپس با الکل اتیلیک مطلق رنگ‌بری و با مشاهدات میکروسکپی وجود اندام‌های قارچی نفوذ کرده به داخل بافت‌های قطعات برگی سالم بررسی شد.

- **آنالیز تقریبی شیمیایی گیاهان سالم و آلوده:** برای مشخص شدن تغییرات حاصل شده در میزان درصد ماده خشک، پروتیین خام، چربی خام و خاکستر موجود در گیاهان آلوده به سفیدک پودری و گیاهان سالم، به صورت تصادفی از اندام‌های کاملاً آلوده و سالم از هرکدام تعداد ۸ نمونه جمع‌آوری و در آزمایشگاه با

1- Horsfall & Cowling
2- Horsfall & Barratt
3- Dewaard

دستگاههای آون (ماده خشک) کجلدال (پروتیین خام) سوکسله (چربی) و روش ونسوست (فیبر) تجزیه شیمیایی شدند. و این داده‌ها با انجام آزمون *t* تست آنالیز شدند.

- **بررسی میزان باز شدن چاسموتسیوم‌ها**: برای بررسی احتمال نقش آسکوسپور به عنوان مایه اولیه آلوده کننده بافت‌های گیاهی، از دو ماه قبل از ظهور علائم بیماری سفیدک پودری از بقایای گیاهی آلوده سال قبل که روی آنها چاسموتسیوم وجود داشت، هر ماه تعدادی جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. و هر ماه حدود ۵۰۰ عدد از چاسموتسیوم‌ها زیر میکروسکوپ بررسی شده و تعداد چاسموتسیوم‌های باز شده و باز نشده (نارس) را شمرده و این کار را به مدت ۳ ماه انجام داده (تا زمان آلودگی کامل گیاهان سال جدید) و در نهایت نمودار وضعیت باز شدن چاسموتسیوم‌های قارچ رسم شد.

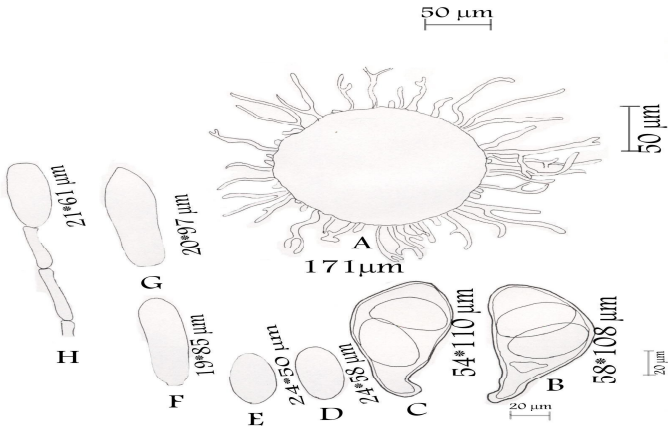
- **بررسی ارتباط فنولوژیک قارچ و گیاه میزبان:** برای انجام این کار از زمان ابتدای رشد گیاه و شروع فعالیت قارچ هر دو هفته یک بار به مناطق مورد نظر رفته و وضعیت رشدی و ارتفاع گیاه، وجود یا عدم وجود سفیدک پودری و نوع اندام رشدی قارچ (فرم غیر جنسی)، شروع رشد چاسموتسیوم، رسیدن چاسموتسیوم، وجود آسک و آسکوسپور را یادداشت کرده و در نهایت این اطلاعات با وضعیت هواشناسی منطقه مقایسه شدند.

نتایج

علایم ایجاد شده توسط این بیمارگر روی گیاه یونجه بدین صورت بود که، میسلیوم‌ها سطح رویی و زیری برگ و روی ساقه را پوشانده و روی میسلیوم‌ها فرم جنسی به صورت پراکنده یا گروهی تشکیل می شد. رنگ چاسموتسیوم‌ها از قهوه‌ای روشن تا قهوه‌ای مایل به سیاه بود. قارچ عامل بیماری گونه *L. taurica* با مشخصات ریخت‌شناسی زیر شناسایی شد. طول زوائد چاسموتسیوم از بسیار کوتاه تا نهایتاً به اندازه قطرچاسموتسیوم بود. رنگ زوائد قهوه‌ای روشن تا کم رنگ، بدون دیواره و اکثراً رشته‌ای و بعضی دو شاخه‌ای بودند. تعداد آسک‌های داخل هر چاسموتسیوم حدود ۲۳ عدد بود و داخل هر کدام از آسک‌ها دو عدد آسکوسپور وجود داشت. فرم غیر جنسی از نوع *Oidiopsis* و کنیدی‌ها اکثراً استوانه‌ای با یک طرف کم عرض‌تر و بعضی کنیدی‌ها استوانه‌ای نوک تیز (کنیدی‌های اولیه) و تعدادی نیز استوانه‌ای کشیده و ندرتاً بعضی استوانه‌ای کامل بودند (کنیدی‌های ثانویه). آسک‌ها بیضوی کشیده و پایه‌دار، بعضی تقریباً استوانه‌ای کشیده پایه دار بودند.آسکوسپورها اکثراً تخم مرغی تا تخم مرغی کشیده و بعضی تقریباً بیضی شکل و ندرتاً بیضی کشیده تا استوانه‌ای بودند. قطر چاسموتسیوم‌ها ۳۴۴-۲۱۰، آسک‌ها ۱۱۸-۷۳×۵۱-۲۲، آسکوسپورها ۵۵-۲۴×۲۶-۱۳ و کنیدی‌ها ۱۰۴-۵۶×۳۲-۱۵ میکرومتر بود (شکل ۲). همچنین وجود قارچ بیمارگر سفیدک پودری روی گونه‌های گیاهی *Centaurea virgata*، *Circium aduncum*، *Centaurea solstitialis* و *Astragalus kirrindicus* در اطراف مزارع یونجه آلوده مشاهده شد (جدول ۱). مقایسه میانگین شدت آلودگی بیماری با *t-test* جفت شده بین سطح رویی و زیری برگ (با توجه به اینکه خسارت اصلی بیماری به برگ‌ها وارد می‌شود) و اثر شدت بیماری روی آنها نشان داد که میانگین شدت بیماری در سطح رویی برگ ۲± ۱۲.۱ درصد و در سطح زیری برگ ۳± ۳۹.۳۲ درصد بود. همچنین بین شدت بیماری در سطح رویی و زیرین برگ همبستگی مثبت و معنی داری وجود داشت ($r=46.4$ و $p<.01$) (جداول ۲ و ۳). از بررسی درصد جوانه‌زنی کنیدی‌های قارچ *L. taurica* روی گیاه یونجه، نشان داده شد که در بین شش تیمار (گروه دمایی) ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد بهترین دما برای جوانه‌زنی کنیدی‌ها دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد بوده و بین تیمارهای ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درجه تفاوت معنی‌دار وجود نداشت ($P <$ ۰/۰۱). در بین تیمارهای فوق تیمارهای ۵ و ۶ (دمای ۳۰ و ۳۵ درجه

سانتی‌گراد) با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشته و کمترین جوانه‌زنی را تیمار ۶ (دمای ۳۵ درجه) به میزان ۱/۸۵±۲/۲۷ درصد و بعد از آن در تیمار ۵ (دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد) به میزان ۱/۵۹±۲/۷۷ درصد داشته‌اند. همچنین بین سه تیمار زمانی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. اثر زمان و اثر متقابل دما در زمان روی درصد جوانه‌زنی معنی‌دار نبود ($P < ۰/۰۱$) (جداول ۴ و ۵).

از بررسی میزان باز شدن چاسموتسیوم‌ها مشخص شد که باز شدن این اندام و رها سازی آسکوسپورها از فروردین ماه با میزان باز شدن ۹/۱ درصد شروع و در اردیبهشت ماه با میزان ۴۱/۹ درصد ادامه یافت و در خرداد ماه به ۹۵/۹ درصد رسید (شکل ۳). این شرایط هم زمان با شروع ظهور علائم آلودگی در بافت‌های گیاهان در مرحله رشد سبزینه‌ای گیاه با میانگین ارتفاع ۵۵/۲۵ سانتی متر بود. از آزمون اثبات نقش آسکوسپور به عنوان یک ماده آلوده کننده اولیه مشخص شد که آسکوسپور یکی از عوامل آلودگی سال جدید است. از آنالیز تقریبی شیمیایی بافت‌های گیاهان سالم و آلوده مشخص شد که بین درصد ماده خشک گیاهان سالم (با میانگین ۱.۲۷±۹۴.۷) و آلوده (با میانگین۱.۴۸ ±۹۵.۲)و چربی خام گیاه سالم(با میانگین۳۷. ±۱.۴) و آلوده (با میانگین۰۴۱±۱.۷) اختلاف معنی دار مشاهده نشد و در یک گروه آماری قرار گرفتند. اما بین در صد پروتیین خام گیاه سالم (با میانگین ۴.۸۷ ± ۲۳.۷۸) و آلوده (با میانگین۲.۷۵ ± ۱۲.۷۵) و فیبر خام در گیاه سالم (با میانگین۲.۳۱ ±۲۳.۷۰) و آلوده (با میانگین۲.۳۹ ±۴۱.۰۰) و خاکستر (که مجموعه‌ای از مواد معدنی و بعضی عناصر در گیاه است) در گیاه سالم (با میانگین۱.۲±۹.۱۰) و آلوده (با میانگین ۹۰. ±۷.۴) اختلاف معنی دار وجود داشت و در دو گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۶) ($p<.05$ و $df=7$). از بررسی ارتباط فنولوژیک گیاه میزبان و قارچ عامل بیماری مشخص شد که در نیمه دوم خرداد در مرحله رشد سبزینه‌ای گیاه با میانگین ارتفاع ۵۵.۲۵ سانتی‌مترو میانگین دمای ۱۳.۳-۲۹.۱ درجه سانتی گراد و متوسط رطوبت نسبی ۱۵-۴۸ درصد و بارندگی ۱.۱ میلی‌متر، علائم قارچ روی گیاه تشکیل شد و در تیرماه در مرحله گلدهی گیاه تا ظهور میوه با میانگین طولی ۷۲.۵۴ سانتی‌مترو با میانگین دمای ۳۶.۳ -۱۷.۹ درجه سانتی گراد و متوسط رطوبت نسبی ۶-۲۸ و بدون وجود بارندگی فرم غیر جنسی قارچ تمام شده و لکه‌های نارنجی که شروع فرم جنسی بود ایجاد شد. و در مرداد ماه در مرحله کامل شدن میوه تا رسیدگی میوه با میانگین طولی ثابت گیاه و میانگین دمای ۱۸.۹-۳۶.۷ درجه سانتی گرادو متوسط رطوبت نسبی ۶-۲۶ درصد و بدون وجود بارندگی فرم جنسی قارچ کامل و داخل آن آسک تشکیل شد و در شهریور ماه در مرحله ریزش بذر با میانگین طولی ثابت گیاه و میانگین دمای ۱۵.۱-۳۳.۱ و متوسط رطوبت نسبی ۸-۲۸ و بدون بارندگی آسکوسپورهای قارچ عامل بیماری تشکیل شدند (جدول ۷ و اشکال ۴ و ۵).



شکل۲- رسم اشکال میکروسکوپی قارچ *L. taurica* روی گیاه *M. sativa*:چاسموتسیوم (A)، آسک (B,C)، آسکوسپور (D,E)، کنیدی (F,G)، قسمتی از کنیدی‌بر و کنیدی روی آن (H). شاخص ۵۰ میکرونی برای چاسموتسیوم و شاخص ۲۰ میکرونی برای سایر اندامهای قارچ رسم شده است.

جدول ۱- مشخصات اندام‌های قارچ روی سایر گیاهان میزبان

نام گیاه	نام علمی	اندازه چاسموتسیوم	اندازه آسک	اندازه آسکوسپور	اندازه کنیدیوم
گل گندم بوته‌ای	*Centaurea virgata* Lam.	۱۵۲-۲۲۵	۲۰-۵۰*۷۰-۱۱۵	۹-۱۷*۳۲-۵۲	-
کنگر یامی	*Cirsium aduncum*Fisch &C.A. Mey.	۲۱۲-۲۵۷	۳۴-۵۳*۱۱۲-۱۶۳	۱۸-۲۹*۲۷-۵۰	۱۶-۲۳*۴۰-۵۲
گل گندم زرد	*Centaurea solstitialis* L.	۱۴۲-۲۵۰	۲۶-۴۵*۵۰-۱۱۶	۱۲-۲۱*۲۴-۴۱	۱۱-۳۲*۳۵-۶۰
نوعی گون علفی	*Astragalus kirrindicus* L.	۱۵۰-۲۴۲	۱۹-۴۸*۶۰-۱۲۲	۱۲-۲۹*۲۰-۴۰	۱۰-۲۵*۲۲-۵۹

جدول ۲- مقایسه میانگین شدت بیماری سفیدک پودری در سطح رویی و زیری برگ‌ها

	میانگین	تعداد	انحراف معیار	میانگین خطای معیار
شدت بیماری در سطح رویی برگها	۱۲.۱۵	۱۰۰	۲.۴۱	۲۴۱.
شدت بیماری در سطح زیرین برگها	۳۹.۳۲	۱۰۰	۳.۸۱	۳۸۲.

جدول ۳- همبستگی بین شدت بیماری سفیدک پودری در سطح رویی و زیری برگ‌ها

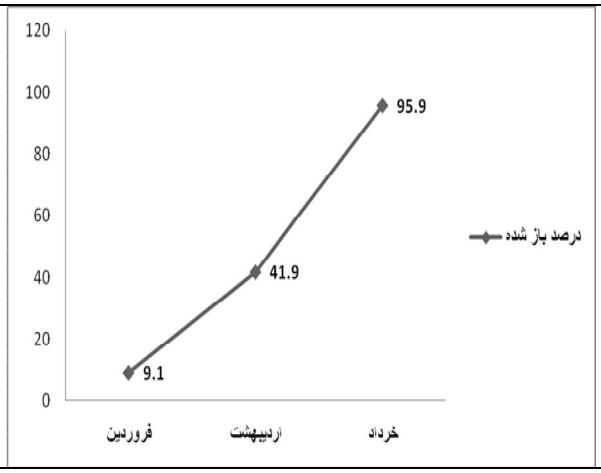
		تعداد	همبستگی	سطح معنی داری
شدت بیماری در سطح زیرین * شدت بیماری در سطح رویی برگها	برگها	۱۰۰	.۶۸۱	۰.۰۰۰

جدول ٤- اثر زمان بر درصد جوانه‌زنی کنیدی

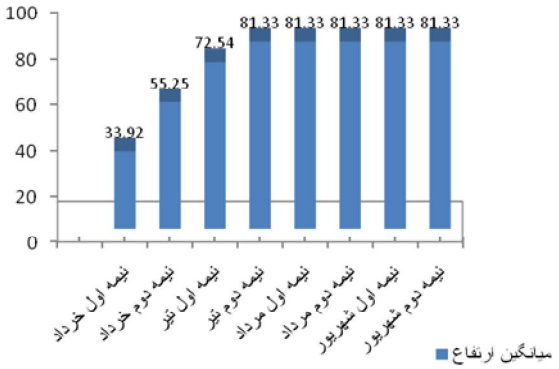
زمان (ساعت)	میانگین جوانه‌زنی ± انحراف معیار
۲۴	۱۱/۳۰±۱/۸۶
۴۸	۱۲/۲۷±۱/۸۶
۷۲	۱۱/۱۴±۱/۸۶

جدول ۵- مقایسه میانگین‌های جوانه زنی کنیدی‌ها در دماهای مختلف

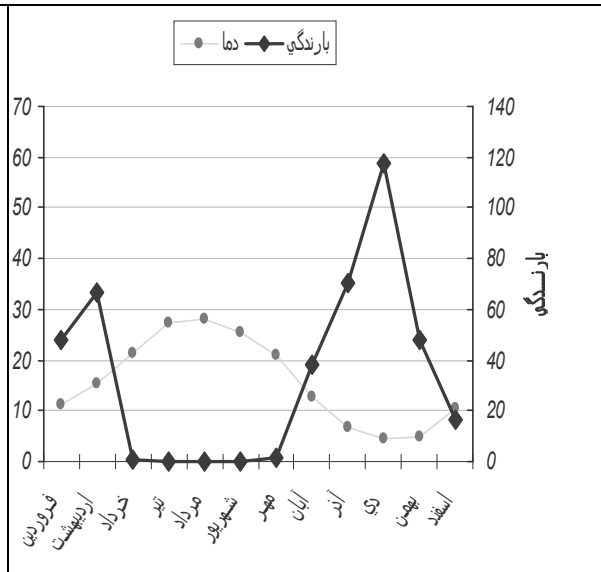
دما (سانتی گراد)	میانگین جوانه‌زنی±انحراف معیار	مقایسه میانگینها
۱۰	۱۶/۷۴±۵/۳۳	ab
۱۵	۱۷/۹۴±۱۰/۹۶	ab
۲۰	۲۰/۵۵±۱۳/۵۱	a
۲۵	۹/۱۷±۳/۸۰	bc
۳۰	۲/۷۷±۱/۵۹	c
۳۵	۲/۲۷±۱/۸۵	c



شکل ۳- روند رو به افزایش درصد چاسموتسیوم‌های باز شده در طول سه ماه از شروع آلودگی تا کامل شدن فرم جنسی قارچ



شکل ۴- مقایسه وضعیت رشد ارتفاعی گیاه در زمان فعالیت قارچ عامل بیماری روی آن

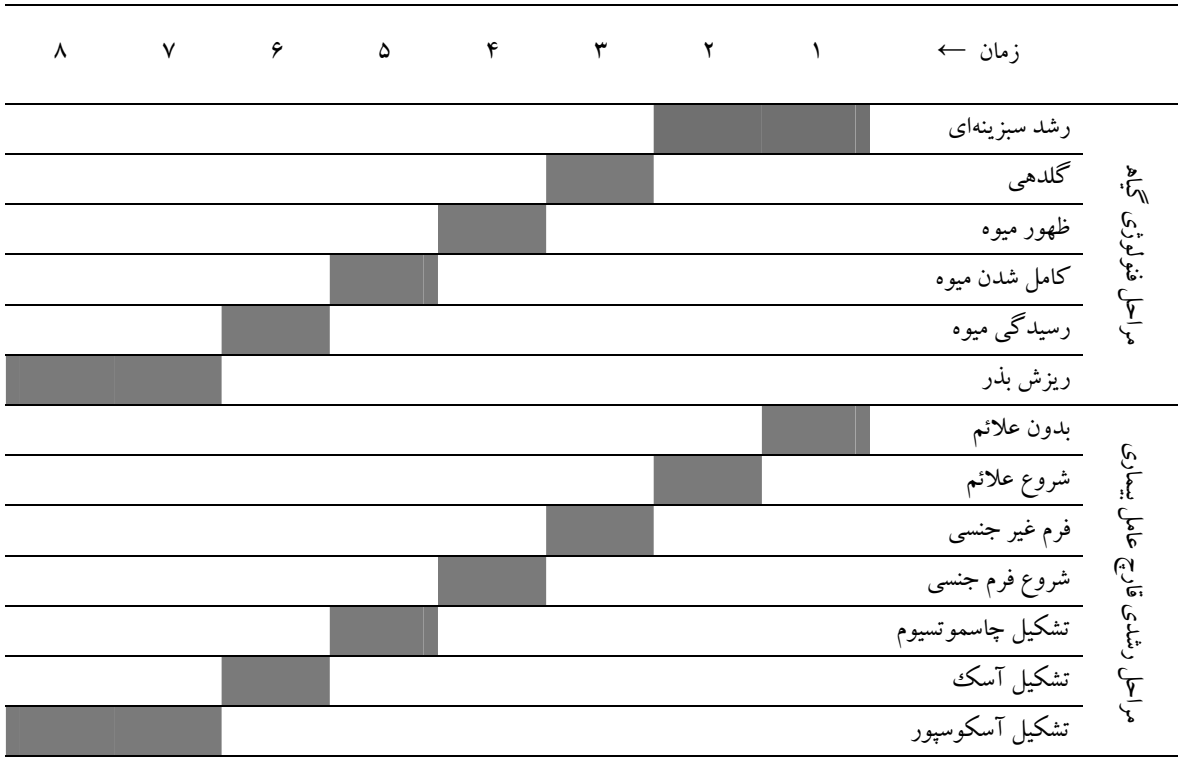


شکل ۵- منحنی آمبروترمیک (متوسط میزان بارندگی و دما) منطقه نمونه‌برداری در زمان فعالیت قارچ

جدول ٦- آزمون *t* تست روی میانگین درصد ماده خشک،پروتیین خام،چربی خام،فیبر خام و خاکستر نمونه‌های گیاهی سالم و آلوده درتجزیه شیمیایی بافت‌های گیاهی سالم و آلوده

وضعیت گیاه	درصدماده خشک	درصد پروتیین خام	درصد چربی خام	درصد فیبر خام	درصد خاکستر
سالم	۹۴.۷۰±۱.۲۷a	۲۳.۶۲±۴.۸۷a	۱.۴۰±.۳۷a	۲۳.۷±۳.۱۲b	۹.۱۰±۱.۲a
بیمار	۹۵.۲۰±۱.۴۸a	۱۲.۷۵±۲.۷۵b	۱.۷۰±.۴۱a	۴۱±۲.۴۰a	۷.۴۰ ±.۹۰b

جدول ۷- مراحل رشد فنولوژیکی گیاه یونجه در زمان فعالیت قارچ عامل بیماری(۱: نیمه اول خرداد، ۲: نیمه دوم خرداد،۳: نیمه اول تیر،۴: نیمه دوم تیر، ۵: نیمه اول مرداد، ۶: نیمه دوم مرداد، ۷: نیمه اول شهریور، ۸: نیمه دوم شهریور)



بحث

سفیدک سطحی یونجه از بیماری‌های مهم این گیاه در پاره‌ای از نقاط ایران است و بیمارگر آن با عنوان *L. taurica* از روی گونه‌های *Medicago* sp. و *Medicago falcate* توسط آمانو[1] (۱۹۸۶) و ارشاد (۱۹۷۱)، روی گونه *Medicago lupulina* توسط آمانو (۱۹۸۶) و ارشاد (۱۹۹۵) و روی گونه *M. sativa* توسط منوچهری[2] (۱۹۶۴)، وینوبورژن[1] (۱۹۵۸)،

1- Amano

2 - Manuchehri

شریف و ارشاد (۱۹۶۶)، محمدی دستدار (۱۳۴۸)، دفتری و بهداد (۱۹۶۸)، ارشاد (۱۳۵۰)، آمانو (۱۹۸۶)، شریف نبی و بنی‌هاشمی (۱۹۹۰)، تاجیک قنبری (۱۹۹۵)، نیکنام و گویا (۱۹۹۹)، حجارود و عباسی (۲۰۰۰) و آیین فر (۲۰۰۶) از ایران گزارش شده است (اسامی و سال گزارش قارچ مذکور از روی یونجه در ایران به نقل از خداپرست و عباسی[2]، ۲۰۰۹ و ارشاد، ۱۳۸۸ می‌باشد).

علائم بیماری به صورت پوشش سفیدرنگ میسلیومی و کنیدی‌های بیمارگر در سطح فوقانی و تحتانی برگ تشکیل شد و ارزیابی این علائم نشان داد که در سطح فوقانی شدت بیماری کمتر (۲.۴۱ ± ۱۲.۱۵) از سطح تحتانی (۳.۸۱±۳۹.۳۲) بود. در اثر رشد قارچ علاوه بر برگ بقیه اندامهای گیاه نظیر شاخه و ساقه آلوده شد ولی چون سطح شاخه و ساقه‌ها نامنظم آلوده شدند، نمره دادن به آنها به منظور برآورد شدت بیماری نسبت به برگ‌ها مشکل‌تر بود و به نظر می‌رسد بهترین روش همان نمره دادن به برگ‌ها باشد چون تا حدودی ارتباطی بین آلودگی برگ‌ها و ساقه وجود داشت. باز شدن چاسموتسیوم‌ها به تدریج از اوایل فروردین شروع شده و در این ماه حدود ۹.۱ درصد آنها باز شدند و در اردیبهشت به حدود ۴۱.۹ درصد و در خرداد ماه به حدود ۹۵.۹ درصد رسیدند. این بررسی اطلاعات قبلی را که به باز شدن چاسموتسیوم‌ها در اوائل بهار اشاره کرده است، کامل‌تر می‌کند. در این تحقیق مشخص شد که بهترین دما برای جوانه زنی کنیدی‌ها بین ۱۰-۲۰ درجه سانتی‌گراد بوده که این اطلاعات با داده‌های هواشناسی که از طبیعت به دست آمد تا حدودی هم خوانی دارد. چون در طبیعت فرم غیر جنسی بیماری از نیمه دوم خرداد تا نیمه اول تیر وجود داشت که دمای ثبت شده توسط هواشناسی از ۲۰-۲۷ درجه بود و اختلاف جزئی که در این مورد وجود داشت قسمتی از آن مربوطه به فاصله و اختلاف جزئی ارتفاع ایستگاه هواشناسی با مناطق نمونه برداری مربوط بود و از طرفی بررسی انجام شده روی جوانه زنی کنیدی‌ها در شرایط آزمایشگاهی انجام شده که قطعا" قدری خطای آزمایش وجود داشته است. از مقایسه بین درصد ماده خشک گیاهان سالم و آلوده به سفیدک پودری هیچ تفاوت معنی داری مشاهده نشد اما بین درصد پروتیین خام گیاه سالم و آلوده به سفیدک پودری اختلاف معنی دار مشاهده شد و درصد پروتیین خام در گیاه بیمار کمتر بود که به علت مصرف ازت بافت گیاه توسط قارچ عامل بیماری بود چون اغلب قارچ‌ها می‌توانند از نیتروژن معدنی مثل نیترات یا آمونیاک استفاده کرده و آنها را به مواد آلی مختلف تبدیل کنند. بین درصد چربی خام گیاه بیمار و سالم اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. با توجه به اینکه فقط بعضی از قارچ‌ها با ترشح لیپازها و فسفولیپازهای خارج سلولی چربی‌ها و فسفولیپیدها را به گلیسرول و اسید چرب تبدیل می‌کنند می‌تواند بیانگر این باشد که با احتمال زیاد قارچ عامل سفیدک پودری در یونجه قادر به این تبدیل نیست. بین درصد فیبر خام اختلاف معنی‌دار مشاهده شد و درصد آن در گیاه بیمار بیشتر از گیاه سالم بود چون قارچ بیمارگر قسمتی از مواد با ارزش غذائی گیاه را مصرف می‌کند (فیبر توسط قارچ قابل مصرف نیست) و باعث بالا رفتن درصد فیبر خام بافت گیاه آلوده نسبت به گیاه سالم می‌شود. بین درصد خاکستر (که مجموعه‌ای از مواد معدنی و بعضی عناصر در گیاه است) در بافت سالم و بیمار اختلاف معنی‌دار مشاهده شد و درصد آن در گیاه بیمار کمتر بود. به علت این که این قارچ مواد معدنی و ویتامین‌ها را در اندام‌های بیمار مصرف می‌کند، درصد خاکستر در بافت‌های آلوده کمتر می‌شود. نتایج حاصل از بررسی درصد جوانه‌زنی کنیدی‌ها در درجه حرارت‌های مختلف در شرایط آزمایشگاهی تقریبا با نتایج حاصل از بررسی‌های قبلی روی گونه‌های عامل سفیدک پودری هلو (وینهولد[3]، ۱۹۶۱)، سفیدک پودری کاهو (اسشناتورست[4]، ۱۹۶۰)، سفیدک پودری انگور(دلپ[5]، ۱۹۵۴)، و سفیدک پودری سیب (وودوارد[6]، ۱۹۲۷) مطابقت دارد. در همه این بررسی‌ها میزان جوانه زنی کنیدی‌ها در شرایط آزمایشگاهی پایین بود در صورتی که در سطح بافت گیاه درصد جوانه‌زنی بیشتری مشاهده شده است و دلیل آن احتمالا" مواد مترشحه از سلول‌های برگی است که باعث افزایش میزان جوانه‌زنی کنیدی‌ها در سطح برگ‌های گیاهان می‌شوند. (ادواردز[7]، ۲۰۰۲).

1- Vienot_Bourgin
2- khodaparast &Abasi,2000

3- Weinhold
4- Schnathorst
5- Delp
6- Woodward
7- Edward

منابع

۱. ارشاد، ج. ۱۳۸۸. قارچ‌های ایران. سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی،۵۳۱ ص.

۲. قنواتی، ف. ۱۳۸۹. تاکسونومی یونجه‌های ایران. نشر آموزش کشاورزی، ۱۲۶ ص.

3. Amano H. K., 1986. Host range and geographical distribution of powdery mildews. MSc Thesis, Faculty of Agriculture Niigata University, Niigata, Japan.

4. Barbetti M.J. 1995. Relative resistance, associated yield losses, and phyto-oestrogen production from fungal foliar diseases in new and old annual Medicago cultivars. Australian Journal of Agricultural Research, 46: 441–450.

5. Braun, U.1987. A monograph of the Erysiphales (Powdery mildew). Lubrecht & Cramer, 700 pp.

6. Ciğdem Onar, M., and Karakaya, A. 2006. Determination of the important alfalfa diseases Occurring in the alfalfa growing areas of the faculty of agriculture of Ankara University. Tarim Bilimleri Dergici, 12 (2): 162-165.

7. Delp, C.J. 1954. Effect of temperature and humidity on the grape powdery mildew fungus. Phytopathology, 44: 615-625.

8. Dewaard, M. A., 1971. Germination of powdery mildew conidia in vitro on cellulose membranes. Laboratory of Phytopathology, Agricultural University, Wagenihgen, the Netherlands. Netherland Journal of Plant Pathology, 77: 6-13

9. Ershad D., 1971. Contribution to the knowledge of Erysiphaceae of Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 6 (3-4): 50-60.

10. Edwards HH. 2002. Development of primary germ tubes by conidia of *Blumeria graminis* f.sp. hordei on leaf epidermal cells of *Hordeum vulgare*. Canadian Journal of Botany, 80: 1121-1125.

11. Elçi , Ş, O. Kolsarıcı and Geçit, H. H. 1994. Tarla Bitkileri, 2.baskı, Ankara Univ. Ziraat Fak. Yayı nları: 1385, Ders Kitabı: 399, Ankara

12. Graham, J. H., Frosheiser., F. J., Stuteville, D. L., and Erwin. D. C. 1979. A compendium of alfalfa diseases. American Phytopathological Society. Minnesota. 65 pp.

13. Horsfall, J.G., and Barratt, R.W. 1945. An improved grading system for measuring plant diseases. Phytopathology (Abstract), 36: 655.

14. Horsfall, J.G., and Cowling, E.B. 1978. Pathometry: the measurement of plant disease, Plant Disease, vol. 2. Academic Press Inc, New York, pp. 119-136.

15. Khodaparast, S. A., and Abbasi, M. 2009. Species, host range and geographical distribution of powdery mildew fungi (Ascomycota: Erysiphales) in Iran. Mycotaxon, 108: 213-216.

16. Manuchehri A. 1964. Plant diseases in Shiraz and vicinity in Tir 1382 (July 1963). Iranian Journal of Plant Pathology 1(3): 2-4.

17. Naseri B., and Marefat, A. 2008. Seasonal dynamics and prevalence of alfalfa fungal pathogens in Zanjan province, Iran. International Journal of Plant Production, 2: 327-40.

18. Nutter, F.W., JR., Guan, J., Gotlieb, A.R., Rhodes, L.H., Grau, C. R., and Sulc, R.M. 2002. Quantifying alfalfa yield losses caused by foliar diseases in Iowa, Ohio, Wisconsin, and Vermont. Plant disease, 86: 269-277.

19. Scudamore, K.A., and Livesey, C.T. 1998. Occurrence and significance of mycotoxins in forage crops and silage: a review. Journal of Science of Food and Agriculture, 77: 1-17.

20. Small, E., and Jomphe, M. 1989. A synopsis of the genus *Medicago* (Leguminosae). Canadian Journal of Botany, 67: 3260.3294.

21. Schnathorst, W. C. 1 960. Relation of microclimates to the development of powdery mildew of lettuce. Phytopathology, 50:450-54

22. Weinhold, A.R. 1961. The orchard development of peach powdery mildew. Phytopathology, 68: 896-899.

23. Woodward, R.C. 1927. Studies on *podosphaera leucotricha* (ell. & ev.) salm: I. The mode of perennation. Transactions of the British Mycological Society, 12: 173-204.