بررسی تغییرات فصلی جمعیت قارچ *Alternaria alternata* عامل بیماری پوسیدگی سیاه پرتقال تامسون ناول در شمال ایران

Study on seasonal fluctuations of the fungus *Alternaria alternata* population, causal agent of Thomson Navel black rot disease in North of Iran

سید وحید علوی [1*] و پرسا تیموری [2]

دریافت: ۹۸/۸/۰۲ پذیرش: ۹۸/۱۲/۰۵

چکیده

پوسیدگی سیاه پرتقال با عامل *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. از جمله بیماری‌های مهم قبل و پس از برداشت میوه پرتقال تامسون ناول در شمال کشور است. اجرای این پروژه در طی دو سال ۱۳۸۹ و ۱۳۹۰ در دو قطعه باغ پرتقال تامسون ناول، ۱۲ ساله با پایه نارنج و هشت ساله با پایه سیترنج با فاصله ۱۰ کیلومتری از یکدیگر و در شمال شهرستان ساری واقع در استان مازندران صورت گرفت. در نوبت‌های ده روزه از خرداد تا مهر ماه و در هر نوبت پنجاه میوه از هر باغ به طور تصادفی انتخاب شد و میانگین قطر میوه‌ها محاسبه شد. محل ناف پنجاه میوه در هر باغ با محلول لاکتوتوئین شستشو و جمع‌آوری شد و میانگین تعداد کل اسپور جوانه زده روی ناف میوه در هر باغ تعیین شد. همبستگی بین داده‌های هواشناسی و شاخص‌های مورد بررسی با نرم‌افزار آماری SAS تعیین شد. تأثیر تغییرات شرایط آب و هوایی در سال اول و دوم نشان داد که در سال اول میانگین جوانه‌زنی اسپورهای قارچ عامل بیماری به ترتیب با دما و بارندگی همبستگی داشت. لذا در صورت وقوع بارندگی با میانگین ده روزه بالاتر از سه میلی‌متر و میانگین دمای بالاتر از ۲۲ درجه سلسیوس، تجمع و جوانه‌زنی اسپورها به حداکثر رسیده و زمان مناسبی برای کنترل بیماری خواهد بود.

واژگان کلیدی: بیماری پوسیدگی سیاه، پرتقال تامسون ناول، دما، بارش، مازندران

۱- دانشیار، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران

۲- دانشجوی دکتری، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

نویسنده مسئول مکاتبات: alavi_v@yahoo.com

مقدمه

باغبانی در استان مازندران ارتباط تنگاتنگی با صنعت مرکبات در این استان دارد؛ چراکه مقام اول سطح زیر کشت و تولید مرکبات را در بین دیگر استان‌ها در کشور به خود اختصاص داده است. سطح زیر کشت مرکبات در استان مازندران در حال حاضر به بیش از ۱۲۰۰۰۰ هکتار و میزان تولید سالیانه نیز به بیش از دو میلیون و پانصد هزار تن رسیده است. بیش از ۶۰ درصد از سطوح زیر کشت مرکبات در منطقه شرقی این استان واقع شده که بیش‌ترین رقم را پرتقال تامسون ناول (نافدار ,Navel) به خود اختصاص داده است (بی‌نام، ۱۳۹۷). یکی از مشکلات مهم در سالیان اخیر ریزش میوه پرتقال‌های نافدار در زمان داشت و پوسیدگی آن‌ها پس از برداشت در اثر بیماری پوسیدگی سیاه ارقام نافدار پرتقال (black rot of Navel orange fruits) است. این بیماری در اغلب گونه‌های مرکبات دیده شده و با ورود از محل ناف، موجب پوسیده شدن (Black rot) میوه از داخل شود. در شرق مازندران خسارت این بیماری در هنگام داشت، تا پنج درصد برآورد شده است و به همین میزان نیز در هنگام برداشت و انبارداری ایجاد خسارت نموده است (علوی و همکاران، ۱۳۸۱).

در حال حاضر باغداران بدون آگاهی از زمان مناسب سمپاشی و نوع قارچ‌کش مناسب، اقدام به مبارزه شیمیایی با این بیماری با استفاده از انواع قارچ‌کش‌ها (مانند مانکوزب و تیوفانات متیل) می‌نمایند که تأثیر چندانی نداشته است. در خصوص عامل این بیماری و ارتباط زیستی آن با میزبان، همچنین آستانه اقتصادی خسارت این بیماری اطلاعات چندانی در دست نیست (Bhatia *et al*., 2002 ؛Houck *et al*., 1990)؛ در حالی‌که در خصوص بیماری لکه قهوه‌ای که عامل آن پاتوتیپ اختصاصی این گونه قارچی روی ارقام نارنگی و تانجلو بوده و علائم خسارت بر روی سرشاخه جوان، برگ و میوه مشاهده می‌شوند، مطالعات متعددی صورت گرفته است (Peever *et al*., 2000 ؛Gilfillan, 1985 ؛Yamada *et al*., 1972) و در ایران نیز از شمال غرب کشور و روی درختان نارنگی و تانجلو در تنکابن مازندران گزارش شده است (مهدویان، ۱۳۷۹).

حداقل سه گروه ژنتیکی از این گونه روی شاخ و برگ مرکبات ایجاد بیماری می‌نماید (Peever *et al*., 1999, 2000؛ Kohmoto *et al*., 1993). در بیماری پوسیدگی سیاه ارقام نافدار پرتقال فقط میوه‌ها آلوده شده و به سایر اندام آسیبی وارد نمی‌شود (Peever *et al*., 2001؛ Brown and McCornack, 1972). نشانه‌های خارجی این بیماری در میوه، اغلب نامشخص می‌باشند و در صورت وجود به شکل لکه‌های قهوه‌ای تا سیاه در انتهای خامه دیده می‌شوند (Brown and Eckert, 2000). میوه‌های آلوده نسبت به میوه‌های سالم سریع‌تر رنگ‌اندازی می‌کنند که ناشی از سنتز اتیلن در میوه در پاسخ به حمله بیمارگر است (Timmer *et al*., 2003). عامل بیمارگر پوسیدگی سیاه در پرتقال‌های نافدار و انواع لیمو اولین بار تحت عنوان *A. citri* معرفی شده است (Brown and Eckert, 2000). شروع و گسترش بیماری پوسیدگی سیاه میوه پرتقال تامسون ناول مشروط به قرار گرفتن اسپور قارچ عامل بیماری در محل ناف، استقرار، جوانه‌زنی و پیدا کردن روزنه عبور از مسیر ناف میوه است (Timmer *et al*., 2003). بر اساس خصوصیات بیماری‌زایی و تولید توکسین، این عوامل در حد نژاد و بر اساس شکل کنیدی‌ها و ابعاد آن، در حد گونه تفکیک شده‌اند (Nishimura and Kohmoto, 1983). با مطالعه بیش از ۱۰۰ جدایه از مرکبات در مناطق مختلف دنیا، جدایه‌های مختلف *A. alternata* را عامل این بیماری دانسته‌اند (Isshik *et al*., 2001). در آخرین مطالعات منتشر شده در خصوص عامل این بیماری، احتمال داده شده است که اکثر گونه‌های آلترناریای کوچک اسپور از گونه *A. alternata* توانایی ایجاد بیماری پوسیدگی سیاه را داشته باشند (Timmer *et al*., 2003). در ایران نیز عامل بیمارگر هر دو بیماری لکه قهوه‌ای نارنگی و پوسیدگی سیاه میوه پرتقال تامسون، جدایه‌هایی از *A. alternata* معرفی شده است (دهپوری جویباری، ۱۳۸۴).

راهکارهای ارائه شده برای کنترل بیماری پوسیدگی سیاه در ارقام نافدار پرتقال بیش‌تر پس از برداشت هستند مانند استفاده از آفت‌کش 2,4-D قبل از برداشت میوه برای تأخیر در زمان رسیدگی میوه و ضدعفونی توسط قارچ‌کش‌ها قبل از انبار (Laville *et al*., 1978؛ Houck *et al*., 1990؛ Gilfillan, 1985؛ Ben-Yehoshua *et al*., 1978). در این مطالعه، تعیین

زمان استقرار و فعالیت عامل بیماری روی میوه و همچنین نوسانات جمعیت آن در طی زمان‌های مختلف سال با هدف ارائه بهترین زمان برای مدیریت این بیماری مد نظر بوده است.

مواد و روش‌ها

این بررسی طی دو سال ۱۳۸۹ و ۱۳۹۰ در دو قطعه باغ پرتقال تامسون ناول، یک باغ ۱۲ ساله با پایه نارنج (باغ شماره ۱) و یک باغ هشت ساله با پایه سیترنج (باغ شماره ۲) با فاصله ۱۰ کیلومتری از یکدیگر و در شمال شهرستان ساری با پیشینه ریزش شدید میوه به واسطه ابتلا به بیماری پوسیدگی سیاه پرتقال تامسون ناول صورت گرفت. در طی مدت اجرای پروژه از مصرف قارچ‌کش روی درختان این باغات ممانعت گردید. از ابتدای خرداد تا پایان مهر ماه در فواصل ده روزه نمونه‌برداری انجام شد. از محلول لاکتوتوئین برای شستشوی ناف میوه پرتقال تامسون ناول استفاده شد تا ضمن جداسازی اسپورهای قارچی از محل اطراف ناف میوه، از جوانه‌زنی یا تغییر شکل آن‌ها نیز جلوگیری کند. در هر باغ نمونه‌برداری با حرکت در طول و عرض و دو قطر باغ صورت گرفت. در هر نوبت از نمونه‌برداری، ۵۰ میوه از هر باغ به طور تصادفی انتخاب و قطر آن‌ها اندازه‌گیری شد و میانگین قطر میوه‌ها محاسبه شد. محل ناف هر یک از ۵۰ میوه در هر باغ با پاشش ۲۴۰ میکرولیتر محلول لاکتوتوئین (توئین-۲۰، ۰/۵ درصد و اسید لاکتیک ۲/۵ درصد، pH =۵/۴۵) شستشو و جمع‌آوری شد. به این معنی که در هر نوبت از نمونه‌برداری، ۱۲ میلی‌لیتر محلول لاکتوتوئین حاصل از شستشوی محل ناف جمع‌آوری می‌شد. سپس ظروف حاوی محلول لاکتوتوئین جمع‌آوری شده به آزمایشگاه منتقل و به مدت ۱۵ دقیقه در $10.000g$ سانتریفوژ گردید (Microfuge, Eppendorf, Germany). رسوب حاصل با ۵۰۰ میکرولیتر محلول لاکتوفنل بلو (MERCK Co., Germany) مخلوط و جمع‌آوری شد. بررسی میکروسکوپی شامل تشخیص و شمارش اسپورها در ۲۰ تکرار یک میکرولیتری انجام گرفت و سپس میانگین گرفته شد و در حجم کل محاسبه گردید. در نهایت میانگین جمعیت اسپورها روی یک میوه از هر باغ و در هر نوبت نمونه‌برداری تعیین شد (Brown and Eckert, 2000). همچنین تعداد اسپور جوانه زده نیز به عنوان ملاکی برای فراهم بودن شرایط مناسب فعالیت قارچ عامل بیماری با فرمول $Ms= 500 \times m \div 50$ (m= میانگین تعداد شمارش شده در ۲۰ نمونه یک میکرولیتری، Ms= میانگین تعداد اسپور روی یک میوه) محاسبه گردید. اطلاعات هواشناسی از نزدیک‌ترین ایستگاه هواشناسی به محل اجرای پروژه، ایستگاه دشت ناز ساری کسب گردید. در پایان زمان اجرای پروژه، مقایسه میانگین‌های صفات مورد بررسی شامل میانگین تعداد کل اسپور، تعداد اسپور جوانه زده و قطر میوه و همبستگی بین شاخص‌های مربوطه با پارامترهای اقلیمی (دما، میانگین بارش) توسط نرم‌افزار آماری SAS و به روش دانکن تعیین شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از مطالعات در سال‌های ۱۳۸۹ و ۱۳۹۰ شامل میانگین‌های تعداد کل اسپور و تعداد اسپور جوانه زده قارچ *A. alternata*، قطر میوه و شاخص‌های هواشناسی به ترتیب در جداول ۱ و ۲ ارائه شده است. روند تغییرات همبستگی صفات با شاخص‌های هواشناسی بیشتر تحت تأثیر سال قرار گرفته است و در دو باغ در هر سال تقریباً روند مشابه داشته است. به علت برهم‌کنش فاکتورهای مختلف هواشناسی و در نهایت اثر آن‌ها بر خصوصیات قارچ آلترناریا روند اثرگذاری آن‌ها بر خصوصیات مورد بررسی از سالی به سال دیگر متفاوت بوده است. در سال اول که میزان بارندگی کم‌تر از سال دوم بوده، همبستگی بین تعداد اسپور جوانه زده و میانگین دما به صورت مثبت معنی‌دار (۰/۵۳) و مثبت (۰/۴۶) بود (جداول۳ و۴)، که نشان دهنده آن است که در شرایط تقریباً ثابت رطوبتی با افزایش دما بیش از ۲۷ درجه سلسیوس، بهترین شرایط برای قارچ عامل بیماری تأمین شده و در نهایت منجر به افزایش درصد جوانه‌زنی شده است.

جدول ۱- میانگین تعداد کل و تعداد اسپور جوانه زده قارچ *A. alternata*، قطر میوه و شاخص‌های هواشناسی سال ۱۳۸۹

Table 1. Mean of the total and germinated spores of *A. alternata*, fruit diameter and climate factors, 2010

Date	تاریخ	تبخیر (٪) Evaporation %	آفتاب Light h	باد Wind Km/h	بارندگی Precipitation mm	رطوبت Humidity %	حرارت Temperature °C	کل اسپور ۱ Total Spore 1	جوانه زده ۱ Germinated 1	قطر میوه ۱ Fruit diameter 1 mm	کل اسپور۲ Total Spore 2	جوانه زده ۲ Germinated 2	قطر میوه۲ Fruit diameter 2 mm
May 21-30	خرداد ۱۰-۱	5.57	8.9	3.05	0.2	72.4	23.4	77	2	13.3	37.5	2	13.7
May 30-Jun. 9	خرداد۲۰-۱۰	8.4	12.2	2.76	0	65.3	26.2	36.5	3	19.4	39.5	2	20.7
Jun. 9-19	خرداد۳۰-۲۰	6.86	8.7	2.66	0.1	72.9	28.1	36	5	29.2	29.5	4.5	29.3
Jun. 21-30	تیر۱۰-۱	6.34	9.53	2.73	0.26	72.4	28.1	29	17	33.9	56	19	35.5
Jun. 21-Jul.10	تیر۲۰-۱۰	8.52	11.9	3.14	0	67.3	29.5	24	13	38.6	18	10	39.1
Jul. 10- 20	تیر۳۰-۲۰	7.25	8.4	2.8	0	73.5	28.5	134	37	44	96	36	48.8
Jul. 22-31	مرداد۱۰-۱	7.6	10.14	3.16	0	68.3	28.6	118	4	50.6	85	3	55.8
Jul. 31-Aug. 10	مرداد۲۰-۱۰	8.15	11.9	2.27	0	63.8	29.7	7.5	0	60.3	13	0	57.8
Aug. 10-20	مرداد۳۰-۲۰	7.14	8.9	2.36	0.36	68.4	29.7	97	23	66.7	74.5	29	61.8
Aug. 22-31	شهریور۱۰-۱	5.43	7.28	2.34	.56	72.7	27.3	37.2	11.1	69.4	19.	8	67.8
Aug. 31-Sep. 10	شهریور ۲۰-۱۰	6.61	9.4	2.57	1.09	72.72	27.63	67	43.5	72.6	47	32.8	61.4
Sep. 10-20	شهریور ۳۰-۲۰	4.48	7.06	2.57	0.66	96.96	23.7	8	6	73.8	22.4	9	69.7
Sep. 22-Oct. 1	مهر۱۰-۱	5.97	836	2.5	0	67.7	24.55	9	0	76.2	3.2	0	72.1
Oct. 1-11	مهر۲۰-۱۰	2.64	4.16	2.36	3.6	79.3	22.86	32	13	75.2	12.1	6	78.5
Oct. 11-21	مهر۳۰-۲۰	3.41	8.26	2.09	0	76.5	21.33	19	2	77.1	5	0	79.4

جدول ۲- میانگین تعداد کل و تعداد اسپور جوانه زده قارچ *A. alternata*، قطر میوه و شاخص‌های هواشناسی سال ۱۳۹۰

Table 2. Mean of the total and germinated spores of *A. alternata*, fruit diameter and climate factors, 2011

Date	تاریخ	تبخیر (٪) Evaporation %	آفتاب Light h	باد Wind Km/h	بارندگی Precipitation mm	رطوبت Humidity %	حرارت Temperature °C	کل اسپور ۱ Total Spore 1	جوانه زده ۱ Germinated 1	قطر میوه ۱ Fruit diameter 1 mm	کل اسپور۲ Total Spore 2	جوانه زده ۲ Germinated 2	قطر میوه۲ Fruit diameter 2 mm
May 21-30	خرداد ۱۰-۱	5.7	7.5	3.56	0.27	76.7	22.4	22.8	16.8	21.8	8.1	6.8	18
May 30-Jun. 9	خرداد ۲۰-۱۰	5.96	4.93	3.33	0	71.3	24.9	8.4	3.4	27.4	12.1	7.1	28
Jun. 9-19	خرداد ۳۰-۲۰	6.3	8.27	3.3	0.1	70.06	27	10	8.2	33.2	21.5	16.4	32.3
Jun. 21-30	تیر ۱۰-۱	6.2	5.53	3.3	2.9	76	26.4	164.1	26.9	37	11.2	8.3	36
Jun. 21-Jul.10	تیر ۲۰-۱۰	6.5	6.9	3.3	0	72.3	28	25.4	1.9	40.9	5.7	2.7	40
Jul. 10- 20	تیر ۳۰-۲۰	7.88	9.4	2.8	0	70.5	28.6	4.2	1.2	44	4.1	0.3	43
Jul. 22-31	مرداد ۱۰-۱	8.31	11.23	6.45	0	67.3	28.8	1.6	4	48	10.4	4.9	45.7
Jul. 31-Aug. 10	مرداد ۲۰-۱۰	6.74	5.79	4.11	1.9	76.8	30.7	94.5	0	53	50.9	53.8	47.7
Aug. 10-20	مرداد ۳۰-۲۰	5.7	6.69	3.36	0	71.4	29	8.4	23	56	4.5	0.3	52.3
Aug. 22-31	شهریور ۱۰-۱	2.65	4.8	3.7	6.3	80.7	23.6	74.2	11.9	58.7	36.1	20.7	53.7
Aug. 31-Sep. 10	شهریور ۲۰-۱۰	4.71	6.1	3.57	.67	72.7	25.5	26.9	11.5	59	9.9	6.8	56.5
Sep. 10-20	شهریور ۳۰-۲۰	4.48	5.5	2.57	2.1	73.9	24	23.1	11.5	64	3	0.4	60
Sep. 22-Oct. 1	مهر ۱۰-۱	5.97	3.92	2.5	2.7	82.7	21.9	53.3	30.5	69	31.2	16.4	67
Oct. 1-11	مهر ۲۰-۱۰	3.38	7.3	2.66	.88	71.3	17.5	14.8	1	70.5	9	0	68
Oct. 11-21	مهر ۳۰-۲۰	2.7	5.35	3.27	13.8	80.4	20.5	40.7	33.6	74	45.5	42.2	70.45

با توجه به میانگین‌های ارائه شده در جدول ۱، با بالا رفتن سطح بارش در دمای بالا، تعداد اسپور نیز روند افزایشی داشته و بالاترین میزان نسبت اسپور جوانه زده به تعداد اسپور کل در شرایط بارندگی بالاتر از ۳ میلی‌متر در شهریور ماه بود. در نیمه دوم تیر و ابتدای مرداد ماه علی‌رغم عدم بارندگی، تعداد اسپور کل افزایش قابل توجهی داشته است؛ ولی تعداد اسپور جوانه زده به نسبت تعداد کل پایین بود. این افزایش را می‌توان با سمپاشی حشره‌کش‌ها در طی این زمان مرتبط دانست که با توجه به حجم بالای محلول‌پاشی انجام گرفته موجب تجمع اسپورها در محل ناف میوه شده است؛ ولی به علت عدم تداوم زمان خیس بودن ناف میوه، تعداد اسپور جوانه زده پایین بود.

جدول ۳- همبستگی بین شاخص‌های هواشناسی، تعداد کل اسپور، تعداد اسپور جوانه زده و قطر میوه در سال اول (باغ ۱)

Table 3. Correlation between climate factors, total number of spores, number of germinated spores and fruit diameter in the first year (Garden 1)

Investigated features	صفات مورد ارزیابی	تبخیر روزانه Daily evaporation	ساعات آفتابی Sunny hours	سرعت باد Wind speed	میانگین بارندگی Average Precipitation	میانگین رطوبت Average humidity	میانگین حرارت Temperature
Total spores	کل اسپور	0.22	0.11	0.48	-0.05	-0.13	0.29
Germinated spores	تعداد اسپور جوانه زده	0.33	0.19	0.34	-0.03	-0.21	0.53*
Fruit diameter	قطر میوه	-0.54*	-0.52*	-0.69**	0.43	0.26	-0.30

*و **: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

* and **: Significant at probability levels of 5 and 1%, respectively

جدول۴- همبستگی بین شاخص‌های هواشناسی، تعداد کل اسپور، تعداد اسپور جوانه زده و قطر میوه در سال اول (باغ ۲)

Table 4. Correlation between climate factors, total number of spores, number of germinated spores and fruit diameter in the first year (Garden 2)

		تبخیر روزانه Daily evaporation	ساعات آفتابی Sunny hours	سرعت باد Wind speed	میانگین بارندگی Average Precipitation	میانگین رطوبت Average humidity	میانگین حرارت Temperature
Total spores	کل اسپور	0.32	0.24	0.52*	-0.19	-0.13	0.44
Germinated spores	تعداد اسپور جوانه زده	0.29	0.19	0.46	-0.13	-0.15	0.46
Fruit diameter	قطر میوه	-0.55*	-0.54*	-0.67**	0.45	0.29	-0.29

*و **: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

* and **: Significant at probability levels of 5 and 1%, respectively

در سال دوم، میانگین دما در تابستان پایین‌تر از سال اول و سطح بارندگی بیش‌تر بود. در این سال میانگین دما از ۲۴ درجه سلسیوس پایین‌تر نبود و با رسیدن به مهر ماه دما کاهش یافت. آن چنان‌که در دهه دوم مهر ماه با وجود وقوع بارندگی، به دلیل کاهش دما تا پایین‌تر از ۱۸ درجه سلسیوس، تعداد اسپور جوانه زده به تعداد کل کاهش شدیدی داشت (جدول ۲).

در سال دوم همبستگی بین میزان بارندگی و تعداد اسپور جوانه زده مثبت و معنی‌دار (۰/۵۹) بوده است (جداول ۵ و ۶) که مشخص می‌نماید در یک دمای مشخص افزایش میزان بارندگی نقش مهمی در افزایش درصد جوانه‌زنی اسپور داشت. در سال دوم و در نیمه اول تیر ماه رسیدن دما به ۲۷ درجه سلسیوس و وقوع بارندگی بالاتر از ۳ میلی‌متر موجب افزایش تعداد کل و جوانه زده اسپورها گردید. در ابتدای مهر ماه این سال نیز با وقوع بارندگی بالاتر از ۳ میلی‌متر و حرارت بالاتر از ۲۲ درجه سلسیوس شرایط مشابهی برای افزایش تعداد کل و جوانه زده اسپورهای قارچ عامل بیماری فراهم گردید.

قارچ عامل بیماری منفذ ورود به میزبان یعنی ناف میوه را به‌طور تصادفی می‌یابد (Dehpour *et al.*, 2007)، لذا هر چه تعداد اسپور جوانه زده بالاتر باشد، احتمال وقوع آلودگی بیشتر می‌شود. گونه *A. alternata* توانایی تولید اسپور روی

بـرگ‌های بالغ، میوه یا شاخه‌های واقع در همه قسمت‌های درخت را دارد (Reis *et al.*, 2006). کنیدی‌ها در هوا انتشار یافته و رها شدن آن‌ها از زنجیره اسپورها و ریسه‌ها به‌علت وجود قطرات آب و رطوبت نسبی ناشی از بارندگی است (Timmer *et al.*, 1998).

جدول ۵- همبستگی بین شاخص‌های هواشناسی، تعداد کل اسپور، تعداد اسپور جوانه زده و قطر میوه در سال دوم (باغ ۱)

Table 5. Correlation between climate factors, total number of spores, number of germinated spores and fruit diameter in the second year (Garden 1)

Investigated features	صفات مورد ارزیابی	تبخیر روزانه Daily evaporation	ساعات آفتابی Sunny hours	سرعت باد Wind speed	میانگین بارندگی Average Precipitation	میانگین رطوبت Average humidity	میانگین حرارت Temperature
Total spores	کل اسپور	-0.12	-0.44	-0.15	0.43	0.17	-0.05
Germinated spores	تعداد اسپور جوانه زده	-0.47	-0.48	-0.19	0.59*	0.23	-0.38
Fruit diameter	قطر میوه	-0.65**	-0.31	-0.14	0.41	0.53*	-0.42

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

* and **: Significant at probability levels of 5 and 1%, respectively

جدول ۶- همبستگی بین شاخص‌های هواشناسی، تعداد کل اسپور، تعداد اسپور جوانه زده و قطر میوه در سال دوم (باغ ۲)

Table 6. Correlation between climate factors, total number of spores, number of germinated spores and fruit diameter in the second year (Garden 2)

Investigated features	صفات مورد ارزیابی	تبخیر روزانه Daily evaporation	ساعات آفتابی Sunny hours	سرعت باد Wind speed	میانگین بارندگی Average Precipitation	میانگین رطوبت Average humidity	میانگین حرارت Temperature
Total spores	کل اسپور	-0.33	-0.26	-0.09	0.09	0.29	-0.31
Germinated spores	تعداد اسپور جوانه زده	-0.30	-0.16	-0.18	0.04	0.18	-0.39
Fruit diameter	قطر میوه	-0.64**	-0.30	-0.17	0.52*	0.38	-0.42

** و **: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

* and **: Significant at probability levels of 5 and 1%, respectively

وقتی که قارچ مزبور در یک باغ مستقر می‌گردد، تعدد میوه‌های پرتقال آلوده‌ای که روی زمین می‌افتند به یقین حجم مایه تلقیح را در همان فصل رشد و برای سال بعد افزایش می‌دهد، آن‌چنان‌که برای عامل بیماری لکه قهوه‌ای نارنگی وقوع پیدا می‌کند (Timmer *et al.*, 2000). لذا بر اساس نتایج حاصل از این بررسی دو ساله و با توجه به وقوع حداکثر ریزش میوه به علت این بیماری در تابستان (علوی و همکاران، ۱۳۸۱) می‌توان پیش‌بینی نمود که در صورت وقوع بارندگی تابستانه با میانگین ده روزه بالاتر از سه میلی‌متر و میانگین دمای برابر تا بالاتر از ۲۲ درجه سلسیوس، احتمال تجمع اسپورها و جوانه‌زنی به حداکثر رسیده و زمان مناسبی برای کنترل بیماری به منظور جلوگیری از ریزش میوه خواهد بود. در صورتی که هدف از تولید به منظور انبارداری میوه‌ها باشد، بایستی دقت داشت که در صورت وجود همین شرایط در مهر ماه احتمالاً نیاز به یک نوبت دیگر استفاده از قارچ‌کش می‌باشد. پایین آمدن دما در نیمه دوم مهر ماه به بعد عامل اصلی محدود کننده جوانه‌زنی قارچ عامل بیماری بوده و پس از آن احتمال آلودگی میوه‌ها پایین است. با توجه به وقـوع بیـماری در زمان‌های مختلف رشدی میوه، ارتباطی از نظر فنولوژی (قطر میوه) با تعداد اسپور مستقر در محل ناف میوه مشخص نگردید. بر اساس بررسی‌های بیولوژیکی و مولکولی به عمل آمده، گونه‌های *A. alternata* جمع‌آوری شده از مرکبات مناطق مختلف جهان، توانایی ایجاد بیماری پوسیدگی سیاه روی پرتقال تامـسون ناول را داشته‌اند و با استفاده از آغازگرهای مناطق مخـتلـف ژنومـی نشـان داده شـده که جـدایه‌های مـولد این بیـماری منشأیی چندگانه (polyphyletic) دارد

(Peever *et al.*, 2004). مطالعات صورت گرفته در آفریقای جنوبی نیز نشان داده است که آلترناریاهای کوچک اسپور با منشأ ژنتیکی متفاوت و از میزبان‌های مختلف توانایی ایجاد بیماری پوسیدگی سیاه را داشته‌اند (Kang *et al.*, 2002). در مورد بیماری پوسیدگی سیاه پرتقال تامسون ناول کار چندانی صورت نگرفته و اطلاعات موجود در خصوص زیست‌شناسی عامل این بیماری و نحوه بیماری‌زایی آن در سایر مناطق مرکبات‌خیز جهان بسیار اندک است. اما با توجه به این که جدایه‌های مختلف *A. alternata* از جمله تیپ بیماری‌زای نارنگی نیز توانسته است بیماری پوسیدگی سیاه را ایجاد کند (Timmer *et al.*, 2003؛ Peever *et al.*, 2004)، احتمالاً بایستی خصوصیات مشابهی از نظر نیازهای حرارتی و رطوبتی داشته باشند. شرایط مساعد برای این گونه دمای ۲۳ تا ۲۷ درجه سلسیوس و برای ایجاد آلودگی توسط تیپ بیماری‌زای نارنگی، مدت هشت تا ۱۲ ساعت متوالی خیس بودن برگ‌ها از حالت شبنم تا وقوع بارندگی ذکر شده و در دمای پایین‌تر، دوره رطوبتی طولانی‌تری برای ایجاد آلودگی مورد نیاز است (Canihos *et al.*, 1999). در مناطق کاشت مرکبات اسپانیا، دمای مناسب برای توسعه بیماری لکه قهوه‌ای نارنگی از اواخر اردیبهشت تا اواخر شهریور وجود دارد، اما وقوع آلودگی پس از وقوع بارندگی‌ها بوده است (Vicent *et al.*, 2007). مدل‌هایی برای تعیین زمان مناسب کنترل بیماری لکه قهوه‌ای نارنگی در امریکا، برزیل و اسپانیا ارائه شده است که همه آن‌ها بر اساس برقرار نمودن یک ارتباط منطقی بین شاخص‌های محیطی و شدت بیماری بوده و پس از مدت مشخصی بارندگی یا شبنم و در صورت وجود حرارت مناسب توصیه برای کنترل صورت گرفته است (Vincent *et al.*, 2007؛ Peres and Timmer, 2006؛ Bhatia *et al.*, 2003). در خصوص مدل‌های پیش آگاهی ارائه شده بر اساس شرایط محیطی به منظور مدیریت و کنترل بیماری‌های گیاهی، ذکر این نکته ضروری است که عملکرد هر مدل باید به‌صورت کاربردی در سال‌های مختلف مورد بررسی قرار گیرد و در صورت موفقیت‌آمیز بودن، قابلیت و ارزش انتشار دارد (Cooke and Kaye, 2006). برخی از مدل‌های پیش آگاهی که مربوط به بیش از چهل سال قبل است، هنوز معتبر بوده و در کشورهای مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد (آهون‌منش، ۱۳۸۸). در سال‌های گذشته نیز مؤلفین این نوشتار به همراه باغ‌داران منطقه شرق مازندران مدیریت کنترل این بیماری را بر اساس مدل پیشنهادی انجام داده و به طور هم‌زمان، بررسی انواع قارچ‌کش‌های موجود و انتخاب نوع مناسب آن برای کنترل این بیماری صورت گرفته که در مقالات آتی نتایج حاصل از این مطالعات انتشار خواهد یافت.

منابع References

آهون‌منش، ع. ۱۳۸۸. اصول مبارزه با بیماری‌های گیاهی، ویرایش دوم. انتشارات کتابیران- آییژ. ۳۹۱ صفحه.

بی‌نام.۱۳۹۷. آمارنامه کشاورزی، محصولات زراعی و باغی سال زراعی ۹۷-۹۶. انتشارات دفتر آمار و اطلاعات سازمان جهاد کشاورزی مازندران.

دهپوری جویباری، ع. ۱۳۸۴. بررسی مقایسه‌ای ویژگیهای ریخت‌شناسی، تشریحی و تکوینی دو گونه قارچ *Alternaria alternata* pv. *Citri* و *A. citri* پایان‌نامه دکتری تخصصی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، ۱۹۰ صفحه.

علوی، و.، جعفری، م. ا. و زاغی، ح. ۱۳۸۱. وقوع بیماری پوسیدگی سیاه (پوسیدگی داخلی) میوه تامسون ناول در شرق مازندران. پانزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، کرمانشاه، ایران، صفحه ۲۳۵.

مهدویان، س. ا. ۱۳۷۹. شیوع *Alternaria citri* عامل بیماری لکه قهوه‌ای آلترناریایی نارنگی تانجلو رقم مینولا در تنکابن استان مازندران. چهاردهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، اصفهان، ایران، صفحه ۳۲۴.

Ben-Yehoshua, S., Cohen, E. and Apelbaum, A. 1978. Effects of various fungicides on the incidence of citrus fruit decay. Scientific Activities 1974 -1977, Institute for technology and storage of agricultural products, Israel, 184: 49-50 .

Bhatia, A., Tesoriero, A. J. and Timmer, L. W. 2002. Evaluation of fungicides for control of greasy spot on grapefruit, 2000-2001. Fungicide and Nematicide Tests (online). Report 57: M02.DOI.1094/FN57. American Phytopathology Society, St. Paul, MN.

Bhatia, A., Roberts, P. D. and Timmer, L. W. 2003. Evaluation of the Alter-Rater model for timing of fungicide applications for control of Alternaria brown spot of citrus. Plant Disease 87:1089-1093.

Brown, G. E. and Eckert, J. W. 2000. *Alternaria* rot. Pp. 37. In: Timmer, L. W., Gamsey, S. M. and Graham, J. H. (eds.) Compendium of Citrus Diseases, 2nd. ed. St. Paul, MN, APS press.

Brown, G. E. and McCornack, A. A. 1972. Decay caused by *Alternaria citri* in Florida citrus fruit. Plant Disease Reporter 56: 909-912.

Canihos, Y., Peever, T. L. and Timmer, L. W. 1999. Temperature, leaf wetness, and isolate effects on infection of Minneola tangelo leaves by *Alternaria* sp. Plant Disease 83: 429-433.

Cooke. B. M. and Kaye, B. 2006. The Epidemiology of Plant Diseases, 2nd. ed. Netherlands, Springer Publishers.

Dehpour, A. A., Alavi, S. V. and Majd, A. 2007. Light and Scanning Electron Microscopy Studies on the Penetration and Infection Processes of *Alternaria Alternata*, Causing Brown Spot on Minneola tangelo in the West Mazandaran–Iran. World Applied Sciences Journal 2(1): 68-72

Gilfillan, I. M. 1985. Preliminary trials on polyethylene film-wrap for South African citrus export fruit. Citrus and Subtropical Fruit Journal 616: 7 - 8.

Houck, L. G., Jenner, J. F. and Mackey, B. E. 1990. Seasonal variability of the response of desert lemons to rind injury and decay caused by quarantine cold treatments. Journal of Horticultural Science 65: 611 - 617.

Isshiki, A., Akimitsu, K. and Yamamoto, H. 2001. Endopolygalacturonase is essential for citrus black rot caused by *Alternaria citri* but not brown spot caused by *Alternaria alternata*. MPMT 14: 749-757.

Kang, J. C., Crous, P. W., Mchau, G. R. A., Serdani, M. and Song, S. M. 2002. Phylogenetic analysis of *Alternaria* spp. associated with apple core rot and citrus black rot in South Africa. Mycology Research 106: 1151–1162.

Kohmoto, K., Shimomura, N., Kondoh, Y., Otani, H., Kodama, M., Nishimura, S. and Nakatsuka, S. 1993. Isolation and biological activities of two host-specific toxins from the tangerine pathotype of *Alternaria alternata*. Phytopathology 83: 495-502.

Laville, E. Y., Harding, P. R., Dagan, Y., Rahat, M. and Rippon, L. E. 1978. Report on trials with Imazalil against post- harvest rots of citrus. Fruits 33: 257 - 267.

Nishimura, S. and kohmoto, K. 1983. Host-specific toxins and chemical structures from *Alternaria* species. Annual Review of Phytopathology 21: 87-116.

Peever, T. L., Canihos, Y., Olsen, L., Ibanez, A., Liu, Y. C. and Timmer, L. W. 1999. Population genetic structure and host specificity of *Alternaria spp.*, causing brown spot of Minneola tangelo and rough lemon in Florida. Phytopathology 89: 851-860.

Peever, T. L., Olsen, L., Ibanez, A., and Timmer, L. W. 2000. Genetic differentiation and host specificity among populations of *Alternaria spp.*, causing brown spot of grapefruit and tangerine x grapefruit hybrids in Florida. Phytopathology 90: 407-414.

Peever, T. L., Su, G., Carpenter-Boggs, L. and Timmer, L. W. 2004. Molecular systematics of citrus-associated *Alternaria* species. Mycologia 96(1): 119–134.

Peres, N. A. and Timmer, L. W. 2006. Evaluation of the Alter-Rater model for spray timing for control of Alternaria brown spot on Murcott tangor in Brasil. Crop Protection 25: 454-460.

Reis, R. F., de Goes, A., Mondal, S. N., Shilts, T., Brentu, F. C. and Timmer, L. W. 2006. Effect of lesion age, humidity, and fungicide application on sporulation of *Alternaria alternata*, the cause of brown spot of tangerine. Plant Disease 90: 1051-1054.

Timmer, L. W., Solel, Z., Gottwald, T. R., Ibañez, A. M. and Zitko, S. E. 1998. Environmental factors affecting production, release, and field populations of conidia of *Alternaria alternata*, the cause of brown spot of citrus. Phytopathology 88: 1218-1223.

Timmer, L. W. 2002. Evaluation of fungicides for control of Alternaria brown spot on Murcotts, 1999. Fungicide and Nematicide Tests 57: Mob.

Timmer, L. W., Darhower, H. M., Zitko, S. E., Peever, T. L., Ibanez, A. M. and Bushong, P. M. 2000. Environmental factors affecting the severity of Alternaria brown spot of citrus and their potential use in timing fungicide applications. Plant Disease 84: 638-643.

Timmer, L. W., Darhower, H. M. and Bhatia, A. 2001. The Alter -Rater, a new weather-based model for timing fungicide sprays for Alternaria control. IFAS, EDIS. Gainesville, University of Florida, SP 175 pp.

Timmer, L. W., Peever, T. L., Solel, Z. and Akimitsu, K. 2003. Alternaria diseases of citrus-novel pathosysytems. Phytopathologia Mediterranea 42: 99-112.

Vicent, A., Armengol, J. and García-Jiménez, J. 2007. Rain fastness and persistence of fungicides for control of Alternaria brown spot of citrus. Plant Disease 91: 393-399.

Yamada, S. I., Kuramoto, T. and Tanaka, H. 1972. Studies on the control of citrus fruit decay in storage. VII. The effect of spraying Satsuma fruit with a fungicide in the orchard. Bulletin of the Horticultural Research Station, B - Okitsu, Japan 12: 207-228.

Study on seasonal fluctuations of the fungus *Alternaria alternata* population, causal agent of Thomson Navel black rot disease in North of Iran

S. V. Alavi[1*] and P. Teymuri[2]

Received: 24 Oct., 2019 Accepted: 24 Feb., 2020

ABSTRACT

Black rot, caused by *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., is one of the important pre and postharvest diseases on Thomson Navel orange fruits in East of Mazandaran. During two years 2010-2011, the experiment was done in two citrus orchards with previous record of the infected fruit drop, a 12-years old orchard of Thomson Navel trees on sour orange and an 8-years old orchard of Thomson Navel trees on citrange, with 10 kilometers distance between them in north of Sari. Diameter mean of 50 fruits were measured in each orchard at 10 days intervals from 20 May to 20 September. Stylar end of the fruits was rinsed with Lacto-Tween solution and collected. Total and germinated spores mean on the fruit stylar end was calculated for each orchard. Regression analysis was determined between meteorological and collected data by SAS statistical software. Year effect had a distinctive trait on the results and number of germinated spores was related to temperature and rainfall in first and second years, respectively. Maximum spores accumulation and germination is predictable when the ten days precipitation average reach to more than three millimetre and the temperature mean more than 22 degrees centigrade, based on the results and the maximum infected fruit drop record in summer. This is optimum time for control of the disease.

Keywords: *Alternaria alternata*, Seasonal fluctuation, Black rot, Thomson Navel orange

1. Associated Professor, Department of Plant Protection Research, Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Sari, Iran.
2. Ph.D. Student, Department of Plant Pathology, Gorgan Agricultural and Natural Resources University, Gorgan, Iran.

Corresponding author: alavi_v@yahoo.com