

بروز مقاومت در سفیدک سطحی مو (*Erysiphe necator*) به پنکونازول و هگزاکونازول در استان خراسان رضوی

محمد حاجیان شهری^{۱*} - مجید عباس پور^۲ - علی گزنچیان^۳ - علی مختاریان^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۱/۲۳

چکیده

در این تحقیق ۳۷ جدایه قارچ عامل بیماری سفیدک سطحی انگور (*Erysiphe necator*) برای امکان وجود مقاومت به قارچ‌کش‌های پنکونازول (توپاس) و هگزاکونازول (انویل) که به طور گسترده ای برای کنترل شیمیایی این بیماری به کار می‌روند، ارزیابی شدند. جدایه‌ها از سطح موستان‌های سه ناحیه عمده انگورکاری استان شامل نه شهرستان در طی سال ۱۳۸۸ در دو مرحله زمانی از اوایل خرداد ماه تا تیرماه و از اواخر مرداد تا اوایل مهر ماه جمع‌آوری شدند. ارزیابی مقاومت این قارچ به قارچ‌کش‌های فوق براساس پنج غلظت از هر کدام از قارچ‌کش (هگزاکونازول در غلظت‌های ۳۰۰، ۳۰، ۳، ۰/۳، ۰) و (پنکونازول در غلظت‌های ppm ۱۲۵، ۱۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۱۲۵، ۰) و با روش زیست‌سنجی دیسک‌های برگ‌ی (Leaf Disk Bioassay) انجام گرفت. بروز مقاومت بر اساس مقادیر EC₅₀ بدست آمده از برازش منحنی‌های لگاریتم لجستیک دز- پاسخ ارزیابی شد. نتایج بدست آمده نشان داد بیشترین میزان EC₅₀ (بیشترین مقاومت) در بین جدایه‌ها نسبت به پنکونازول و هگزاکونازول به ترتیب مربوط به شهرستان‌های درگز (۰/۹۳ ± ۰/۹۳ میلی گرم در لیتر) و قوچان (۳/۱۵ ± ۰/۳۹ میلی گرم در لیتر) بود. در مورد هگزاکونازول مقادیر EC₅₀ جدایه‌های به دست آمده از مرحله آسکوسپوری عامل بیماری بیشتر از مرحله کنیدیایی آن و در مورد پنکونازول مقادیر EC₅₀ جدایه‌های به دست آمده از مرحله کنیدیایی عامل بیماری بیشتر از مرحله آسکوسپوری بود. نتایج این بررسی بروز مقاومت *Erysiphe necator* به قارچ‌کش‌های پنکونازول و هگزاکونازول را در سطوح متفاوتی در برخی از شهرستان‌های استان خراسان رضوی نشان داد.

واژه‌های کلیدی: سفیدک سطحی، مو، انگور، قارچ‌کش، مقاومت و *Erysiphe necator*

مقدمه

خراسان رضوی از مهمترین بیماری‌های این محصول باغی می‌باشد و هر ساله ۵۵ درصد موستان‌ها را مبتلا می‌کند و میزان خسارت آن بین ۸۰-۲۰ درصد گزارش شده است (۲). در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی در خصوص ارزیابی مقاومت و حساسیت قارچ‌کش‌های مختلف نسبت به *E. necator* انجام شده است. وای پما و همکاران (۲۳) حساسیت جدایه‌های *E. necator* را نسبت به بنومیل و قارچ‌کش‌های تریادیمفون، میکلوبوتانیل و فناریمول، طی سال‌های ۱۹۹۳ تا ۱۹۹۵ ارزیابی کرده و نشان دادند که در طی این سالها به ترتیب ۸۱/۸، ۹۶ و ۹۶/۷ درصد از جدایه‌ها روی حلقه‌های برگ‌ی تیمار شده با ۳۰ میلی گرم در لیتر بنومیل رشد نکردند و ممانعت از رشد بقیه جدایه‌ها بیشتر از ۹۰ درصد بود و بالاترین میزان EC₅₀ در بین سه قارچ‌کش تریادیمفون، میکلوبوتانیل و فناریمول، متعلق به تریادیمفون بود. پیرسون و تاجنبرگ (۱۷) وجود نژادهای مقاوم به بنومیل در قارچ *E. necator* را اثبات و نشان

سطح انگورکاری ایران در سال زراعی ۸۶-۸۷ حدود ۳۰۲۰۰۰ هکتار و تولید آن برابر ۱/۸ میلیون تن برآورد و متوسط عملکرد انگور آبی ایران حدود ۷۹۰۰ کیلوگرم در هکتار می‌باشد. استان‌های فارس، خراسان رضوی و قزوین به ترتیب بالاترین سطح زیر کشت این محصول را در کشور دارا هستند، اما استان خراسان رضوی با ۱۲/۲ درصد بالاترین میزان تولید را دارد (برگرفته از آمارنامه محصولات کشاورزی باغی استان خراسان رضوی سال زراعی ۸۷-۸۸ منتشر نشده). بیماری سفیدک سطحی انگور که توسط قارچ *Erysiphe necator* Schwein [Syn.: *Uncinula necator* (Shwein.) Burrill] بوجود می‌آید (۷) در ایران و استان

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب استادیاران و کارشناس ارشد مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی

(* - نویسنده مسئول: (Email: Mhag52570@yahoo.com)

مواد و روش‌ها

۳۷ جدایه *E. necator* از موستان‌های مختلف از سه ناحیه استان شامل ناحیه اول (شهرستان‌های مشهد، چناران، قوچان و درگز)، ناحیه دوم (شهرستان‌های نیشابور و سبزوار) و ناحیه سوم (شهرستان‌های خلیل‌آباد، کاشمر و بردسکن) جمع‌آوری شدند. ۳ تا ۵ جدایه از هر شهرستان بر اساس سطح زیر کشت و شرایط آب و هوایی جمع‌آوری و اطلاعات مربوط به هر جدایه (تاریخ جمع‌آوری، مرحله فنولوژیکی مو و رقم آن) یادداشت برداری شد. جمع‌آوری جدایه‌ها در دو مرحله یک بار در شروع آلودگی و بار دوم در اواخر فصل انجام و برگ‌ها و میوه‌های آلوده پس از جمع‌آوری در بین برگ‌های سالم انگور قرار داده شده و به آزمایشگاه منتقل شدند. در ابتدا جدایه‌های جمع‌آوری شده روی حلقه‌های برگ‌ی انگور رقم عسکری به قطر ۱۰ میلی‌متر که به مدت ۳۰ ثانیه با اتانول ۵۰ درصد ضد عفونی سطحی شده بودند، تکثیر شدند. برای انجام این عمل یک زنجیره کنیدیومی از هر جدایه بر روی حلقه‌های برگ‌ی در شرایط استریل منتقل و سپس این حلقه‌ها در تشتک‌های پتری حاوی آب-آگار ۱/۵ درصد همراه با ۱۰ میلی‌گرم ریفامپیسین، ۵ میکروگرم پیماریسین و ۱۵۰ میلی‌گرم آمپی‌سیلین در لیتر تعبیه و در شرایط رطوبتی ۹۰ درصد و شرایط نوری-تاریکی ۱۲ ساعت و شدت نوری ۱۰۰۰ لوکس در دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و پس از تشکیل کلنی‌های *E. necator* بر روی هر حلقه برای ادامه تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند.

برای ارزیابی مقاومت جدایه‌های *E. necator* به قارچ‌کش‌های هگزاکونازول و پنکونازول، ابتدا مقادیر دوزهای توصیه شده، از فرمولاسیون تجاری هر کدام از آنها در آب مقطر استریل تهیه گردید. سپس ۵ غلظت بر اساس غلظت توصیه شده برای کنترل بیماری سفیدک سطحی مو (هگزاکونازول در غلظت‌های ۳۰۰، ۳۰، ۳، ۰/۳ و صفر) و (پنکونازول در غلظت‌های ۱۲۵، ۱۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۱۲۵ و صفر) قسمت در میلیون (ppm) تهیه گردید. هر غلظت از هر قارچ‌کش به عنوان یک تیمار و دوز صفر به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. برای انجام زیست‌سنجی‌ها، ابتدا حلقه‌های برگ‌ی به قطر ۱۰ میلی‌متر از برگ‌های جوان رقم عسکری بریده شده و به مدت ۳۰ دقیقه در غلظت‌های مورد نظر نگهداری شدند. سپس این حلقه‌های برگ‌ی با جدایه‌های تک اسپور شده *E. necator* مربوط به هر شهرستان با انتقال یک زنجیره کنیدی قارچ، تلقیح و در تشتک‌های پتری همراه با دو لایه کاغذ صافی استریل قرار داده شدند. چهار حلقه برگ‌ی در هر تشتک پتری قرار داده شد، که به عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شدند و هر حلقه برگ‌ی موجود در یک تشتک پتری به عنوان یک تکرار بود. تشتک‌های پتری در شرایط نوری-تاریکی ۱۴ : ۱۰ ساعت و شدت نوری ۱۰۰۰ لوکس و دمای ۲۴ درجه

دادند که این قارچ‌کش با غلظت ۱/۱۲ کیلوگرم در هکتار ۸-۵ درصد بیماری را کاهش داد. نورث اور و هومیر (۱۶) نشان دادند که میکلوبوتانیل سفیدک سطحی انگور را در انتاریوی کانادا به خوبی کنترل نمی‌کند و میانگین غلظت کاربرد آن در مورد ۳۰ جدایه از مناطقی که تاکنون میکلوبوتانیل علیه سفیدک سطحی انگور استفاده نشده بود ۰/۲۴ میکروگرم در میلی‌لیتر و میانگین آن در نواحی‌ای که این قارچ‌کش علیه این قارچ به طور متوالی مورد استفاده قرار گرفته بود ۰/۵۴ میکروگرم در میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد. گابلر و همکاران (۱۰) حساسیت ۱۹ جدایه *E. necator* که از نواحی مختلف ایالت کالیفرنیا جمع‌آوری شده بودند را در برابر سه قارچ‌کش تریادیمفون، میکلوبوتانیل و فناریمول ارزیابی کردند. نتایج آنها نشان داد که افزایش معنی‌دار EC₅₀ برای هر سه قارچ‌کش در طول فصل رشدی پس از کاربردهای مکرر تریادیمفون دیده شد. بروز مقاومت به تریادیمفون در مورد میکلوبوتانیل و فناریمول نیز دیده شد. اریکسون و ویلکاکس (۸) توزیع حساسیت سه قارچ‌کش DMI شامل تریادیمفون، فناریمول و میکلوبوتانیل را در بین جمعیت‌های حساس و مقاوم *E. necator* به تریادیمفون ارزیابی کردند، بر اساس نتایج حاصل از میزان حساسیت و مقادیر EC₅₀ مشخص شد، از ۷۶ جدایه که به تریادیمینول مقاوم بودند، ۶۴ جدایه (۸۴ درصد) با میکلوبوتانیل مقاومت تقاطعی داشتند، ۱۸ درصد مقاومت تقاطعی با فناریمول و ۱۷ درصد به هر سه قارچ‌کش مقاوم بودند. ۲۵ درصد جدایه‌هایی که مقاوم به میکلوبوتانیل بودند به فناریمول نیز مقاوم بودند. قارچ‌کش‌های گروه DMI از اوایل سال ۱۹۸۰ در آمریکا به عنوان یک عامل کلیدی کنترل بیماری سفیدک سطحی انگور مورد استفاده بوده‌اند و تحقیقات نشان داده است که مقاومت به این گروه از قارچ‌کش‌ها در بین جمعیت‌های *E. necator* حتی قبل از کاربرد وجود داشته است (۱۹) اگر چه بعد از بروز مقاومت نسبی در برخی نقاط دنیا نسبت به این ترکیبات (۱۴ و ۱۶) هنوز کنترل موثر بیماری در بسیاری از کشورها دیده می‌شود. در همین ارتباط به دلیل کاربرد روز افزون قارچ‌کش‌های ضد سنتز ارگوسترول در کشور و آزمایش‌هایی که به منظور بررسی تاثیر این قارچ‌کش‌ها برای کنترل این بیماری انجام شده است (۱، ۳، ۵)، ضروری به نظر می‌رسد که احتمال وجود مقاومت به این گروه از قارچ‌کش‌ها در بین جمعیت‌های این گونه قارچی ارزیابی شود. لذا در این تحقیق امکان وجود مقاومت به دو قارچ‌کش پنکونازول (با نام تجاری توپاس) و هگزاکونازول (با نام تجاری انویل) که در چند سال اخیر در استان‌های خراسان رضوی، اصفهان و آذربایجان شرقی برای کنترل بیماری سفیدک سطحی انگور توسط هیئت نظارت بر سموم کشور ثبت دائم و یا موقت شده‌اند (۶) با هدف بررسی امکان وجود مقاومت به این قارچ‌کش‌ها در بین جمعیت‌های قارچ *E. necator* مورد بررسی قرار گرفت.

قوچان و درگز)، ناحیه دوم (شهرستان‌های نیشابور و سبزوار) و ناحیه سوم (شهرستان‌های خلیل‌آباد، کاشمر و بردسکن) نیز در شکل ۲ نشان داده شده است.

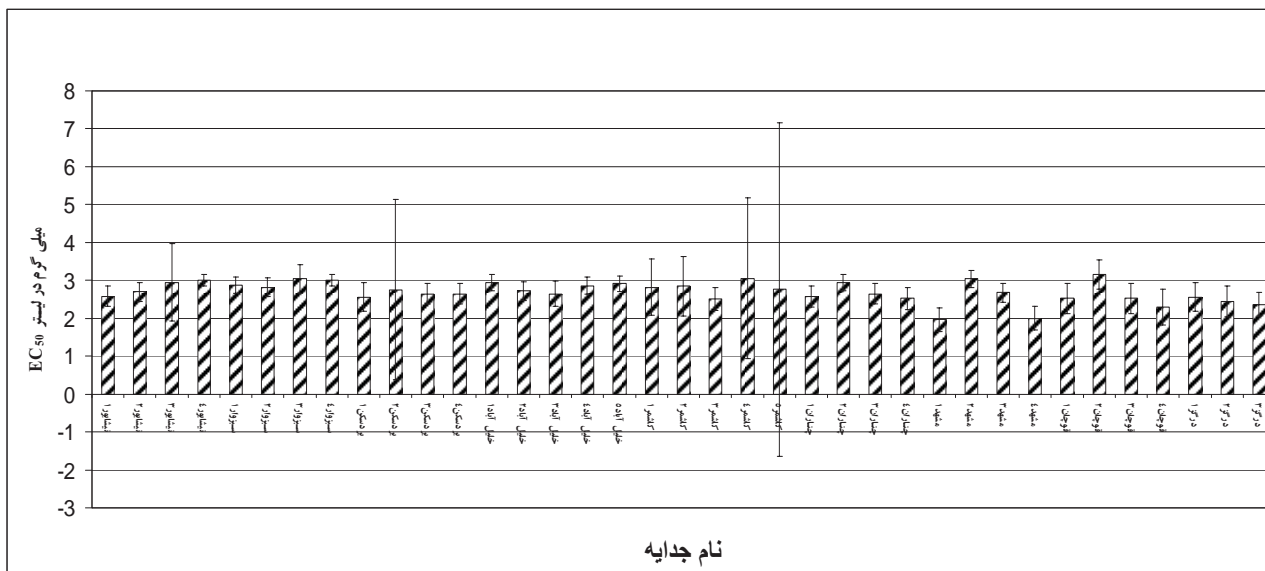
همان‌طور که در شکل ۱ و ۲ دیده می‌شود دو جدایه مشهد ۱ (۱/۹۷ ± ۰/۳۲ میلی گرم در لیتر) و مشهد ۴ (۱/۹۹ ± ۰/۳۱ میلی گرم در لیتر) حساس‌ترین جدایه‌ها نسبت به سایر جدایه‌ها بودند. جدایه‌های قوچان ۲، مشهد ۲ و کاشمر ۴ از نظر مقادیر EC_{50} جزء مقاوم‌ترین جدایه‌ها بودند و تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال آماری $P \leq 0/05$ بین بقیه جدایه‌ها در مقدار EC_{50} دیده نمی‌شود. در ناحیه ۱، جدایه‌های درگز ۱ (۳/۱۵۰ میلی گرم در لیتر) و مشهد ۱ (۱/۹۶۸ میلی گرم در لیتر)، در ناحیه ۲ جدایه‌های سبزوار ۳ (۳/۰۴ میلی گرم در لیتر) و نیشابور ۱ (۲/۵۸۳ میلی گرم در لیتر) و در ناحیه ۳ جدایه‌های کاشمر ۴ (۳/۰۵۵ میلی گرم در لیتر) و کاشمر ۳ (۲/۵۱۴ میلی گرم در لیتر) به ترتیب بیشترین و کمترین EC_{50} را دارا بودند. تغییرات میزان EC_{50} هگزاکونازول در مورد جدایه‌های *E. necator* جمع‌آوری شده در مرحله آسکوسپوری و مرحله کنیدیایی به ترتیب نشان دادند (شکل ۳)، که جدایه مشهد ۱ (۱/۹۷ میلی گرم در لیتر) و جدایه مشهد ۴ حساس‌تر از بقیه جدایه‌ها (۱/۹۹ میلی گرم در لیتر) هستند (شکل ۴). همچنین نتایج به دست آمده نشان دادند که میانگین EC_{50} جدایه‌های جمع‌آوری شده از مرحله آسکوسپوری (۲/۷۴ میلی گرم در لیتر) عامل بیماری در مورد این قارچ‌کش از مرحله کنیدیایی (۲/۶۷ میلی گرم در لیتر) آن بیشتر می‌باشد.

ساتی‌گراد نگهداری و از روز پنجم میزان رشد کلنی قارچ اندازه‌گیری شد، این عمل تا زمانی ادامه یافت که سطح حلقه‌های برگی مربوط به تیمار شاهد به طور کامل با رشد قارچ عامل بیماری پوشانده شد. میزان EC_{50} غلظت‌های مختلف این دو قارچ‌کش، یا غلظتی از آنها که ۵۰ درصد ممانعت از رشد قارچ را ایجاد می‌کند با استفاده از روش آنالیز رگرسیون غیر خطی و منحنی‌های دز پاسخ با استفاده از معادله لگاریتم لجستیک (۲۱ و ۲۰) و با استفاده از نرم افزار R (۱۸) محاسبه شدند.

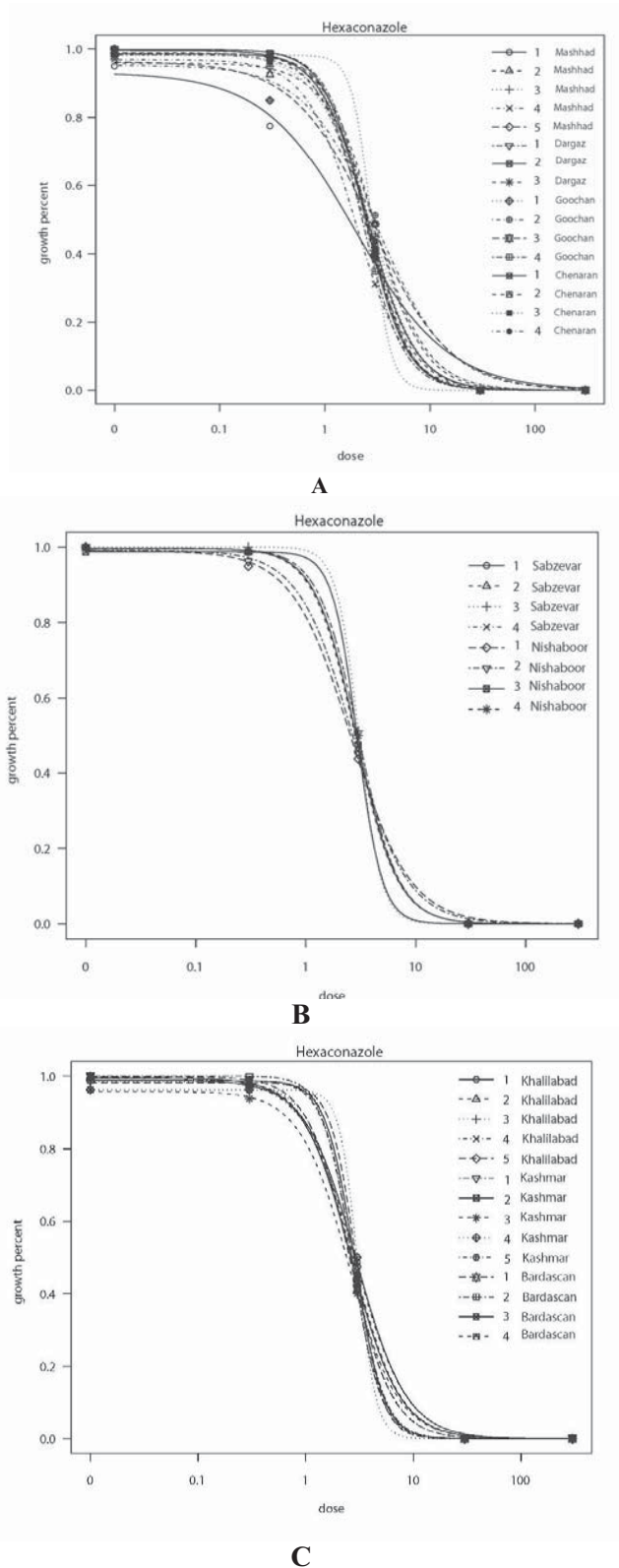
نتایج و بحث

جدایه *E. necator* از شهرستان‌هایی، که علاوه بر بیشترین سطح زیر کشت انگور، اقلیم آب و هوایی متفاوتی نیز دارند، در دو دوره زمانی با توجه به بیولوژی عامل بیماری (اوایل خرداد تا اوایل تیر ماه) جدایه‌های به دست آمده از مرحله آسکوسپوری و (اواخر مرداد ماه تا اوایل مهر ماه) جدایه‌های به دست آمده از مرحله کنیدیایی قارچ عامل بیماری جمع‌آوری شدند. مقادیر مختلف EC_{50} هگزاکونازول در مورد جدایه *E. necator* جمع‌آوری شده از سه ناحیه استان شامل ناحیه اول (شهرستان‌های مشهد، چناران، قوچان و درگز)، ناحیه دوم (شهرستان‌های نیشابور و سبزوار) و ناحیه سوم (شهرستان‌های خلیل‌آباد، کاشمر و بردسکن) در شکل ۱ نشان داده شده است.

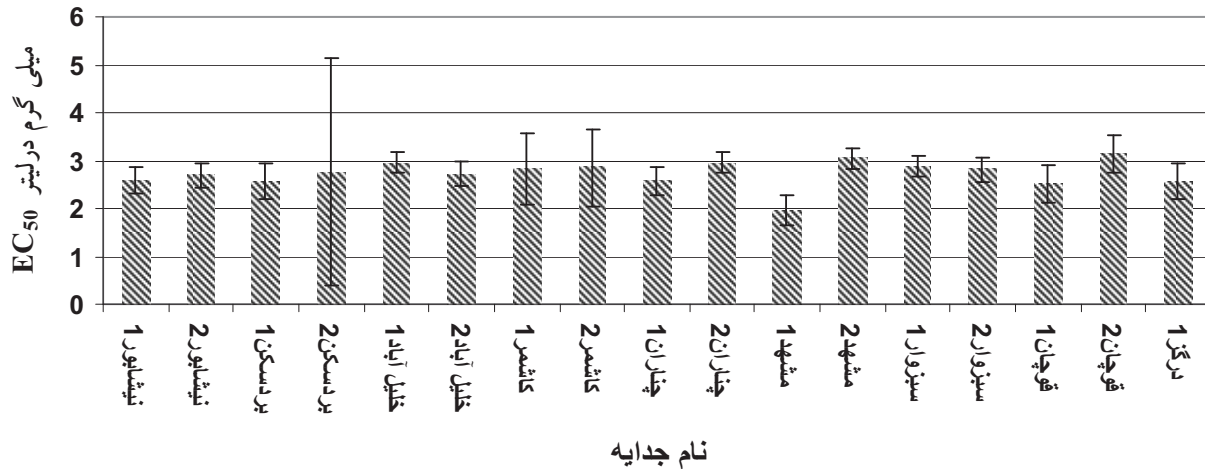
منحنی واکنش دوزهای مختلف (Dose-Response) هگزاکونازول در برابر جدایه‌های *E. necator* جمع‌آوری شده از سه ناحیه استان شامل ناحیه اول (شهرستان‌های مشهد، چناران،



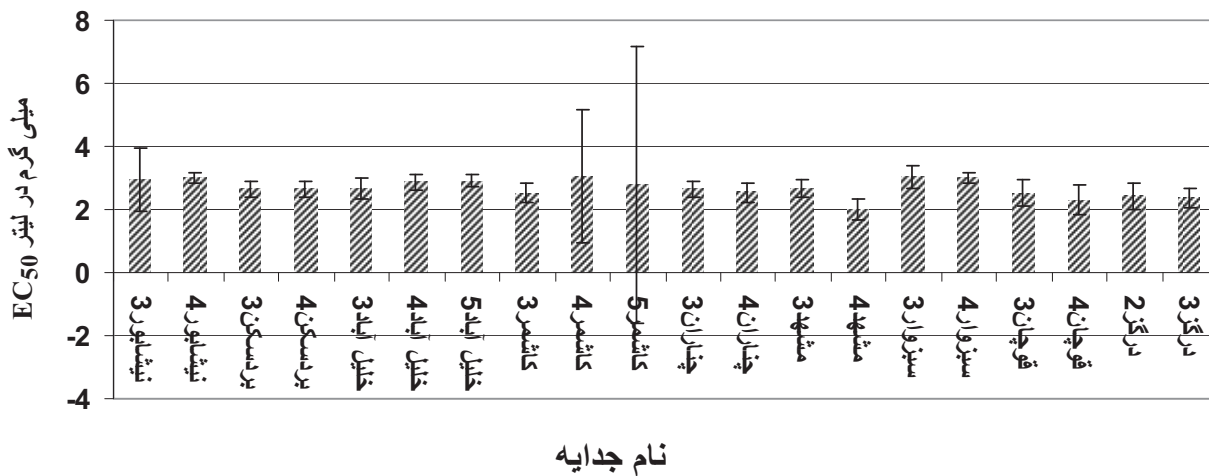
شکل ۱ - تغییرات میزان EC_{50} بدست آمده از منحنی‌های دوز- پاسخ جدایه‌های *E. necator* نسبت به هگزاکونازول



شکل ۲ - منحنی واکنش *E. necator* در برابر دوزهای مختلف هگزاکونازول در سه ناحیه (A: شهرستان‌های مشهد، چناران، قوچان و درگز، B: شهرستان‌های نیشابور و سبزوار و C: شهرستان‌های خلیل‌آباد، کاشمر و بردسکن)



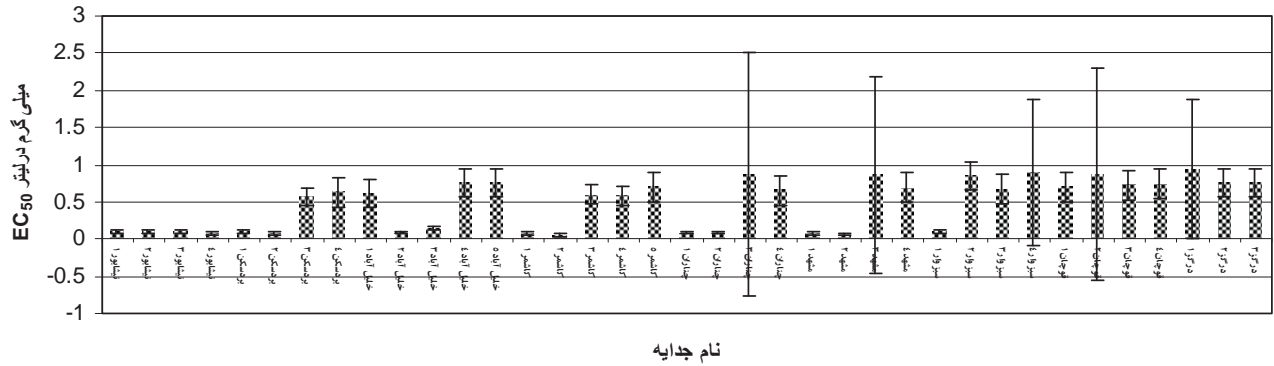
شکل ۳- تغییرات میزان EC₅₀ جدایه‌های مرحله آسکوسپوری *E. necator* نسبت به هگزاکونازول



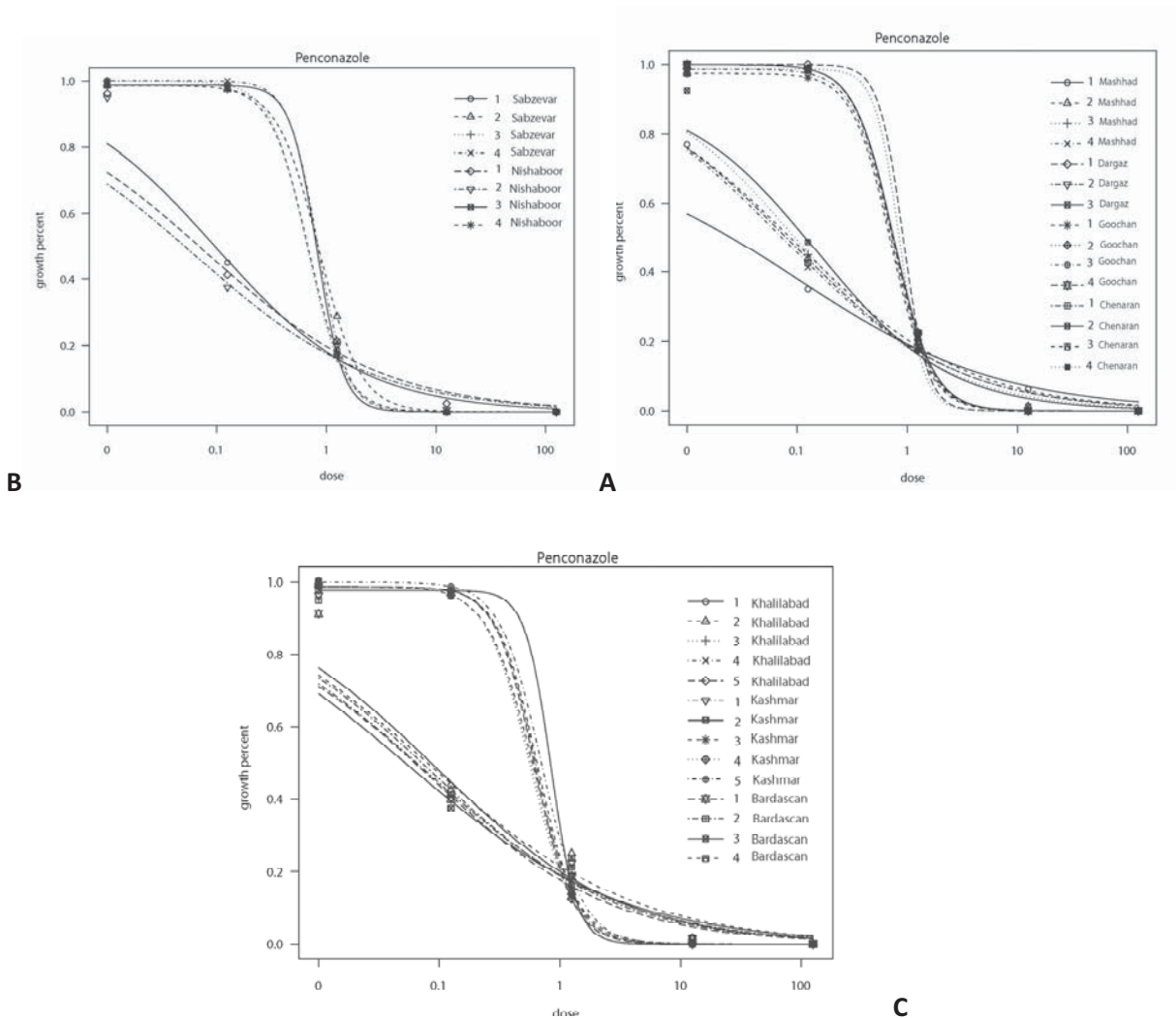
شکل ۴- تغییرات میزان EC₅₀ جدایه‌های مرحله کنیدیایی *E. necator* نسبت به هگزاکونازول

(۰/۹۳۲ میلی گرم در لیتر) و کاشمر ۲ (۰/۰۵۲ میلی گرم در لیتر) و میانگین EC₅₀ تمامی جدایه‌ها (۰/۴۷۲ میلی گرم در لیتر) بود. تغییرات میزان EC₅₀ هگزاکونازول در مورد جدایه‌های *E. necator* جمع‌آوری شده در مرحله آسکوسپوری و مرحله کنیدیایی به ترتیب نشان دادند که جدایه مشهد ۱ (۰/۰۰۶ میلی گرم در لیتر) و جدایه نیشابور ۴ (۰/۰۰۷ میلی گرم در لیتر) حساس‌تر از بقیه جدایه‌ها هستند (شکل ۷ و ۸). همچنین نتایج به دست آمده نشان دادند که میانگین EC₅₀ جدایه‌های جمع‌آوری شده از مرحله آسکوسپوری (۰/۴۲ میلی گرم در لیتر) عامل بیماری در مورد این قارچ‌کش از مرحله کنیدیایی (۰/۰۶۲ میلی گرم در لیتر) آن کمتر می‌باشد و ۸۵ درصد جدایه‌های جمع‌آوری شده در مرحله کنیدیایی عامل بیماری اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال آماری ۰/۰۱ $P \leq$ با بقیه جدایه‌ها دارند.

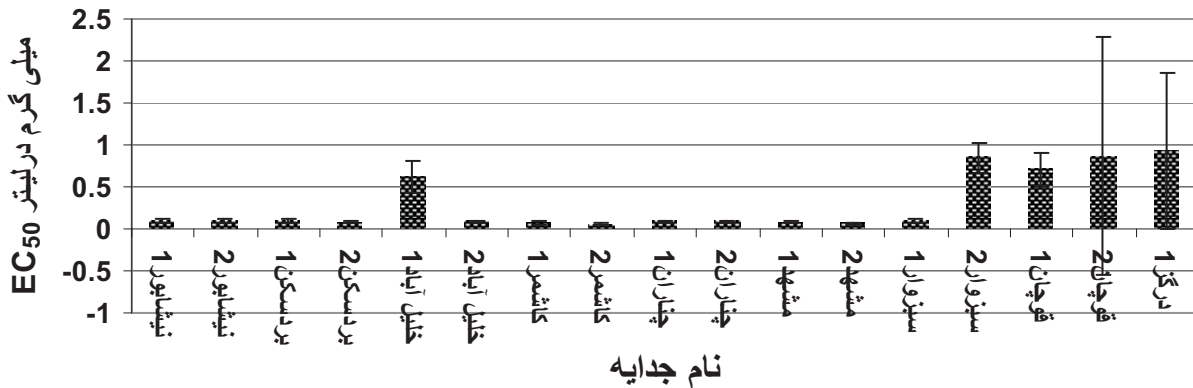
تغییرات میزان EC₅₀ پنکونازول در مورد ۳۷ جدایه *E. necator* جمع‌آوری شده از سه ناحیه استان در شکل ۵ و منحنی واکنش (Dose-Response) جدایه‌های *E. necator* جمع‌آوری شده از سه ناحیه استان شامل ناحیه اول (شهرستان‌های نیشابور و مشهد، چناران، قوچان و درگز)، ناحیه دوم (شهرستان‌های نیشابور و سبزوار) و ناحیه سوم (شهرستان‌های خلیل‌آباد، کاشمر و بردسکن) نسبت به دوزهای مختلف پنکونازول در شکل ۶ نشان داده شده است، همان‌طور که در شکل ۵ و ۶ دیده می‌شود، در ناحیه ۱ جدایه‌های چناران ۱ و ۲، در ناحیه ۲ تمام جدایه‌های نیشابور و جدایه سبزوار ۱ و در ناحیه ۳، جدایه‌های بردسکن ۱ و ۲، کاشمر ۱ و ۲ و خلیل‌آباد ۲ و ۳ از نظر مقادیر EC₅₀ جزء حساس‌ترین جدایه‌ها بودند و تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال آماری ۰/۰۵ $P \leq$ بین بقیه جدایه‌ها در مقدار EC₅₀ دیده نمی‌شود. بیشترین و کمترین مقدار EC₅₀ در این سه ناحیه برای این قارچ‌کش به ترتیب مربوط به جدایه‌های درگز ۱



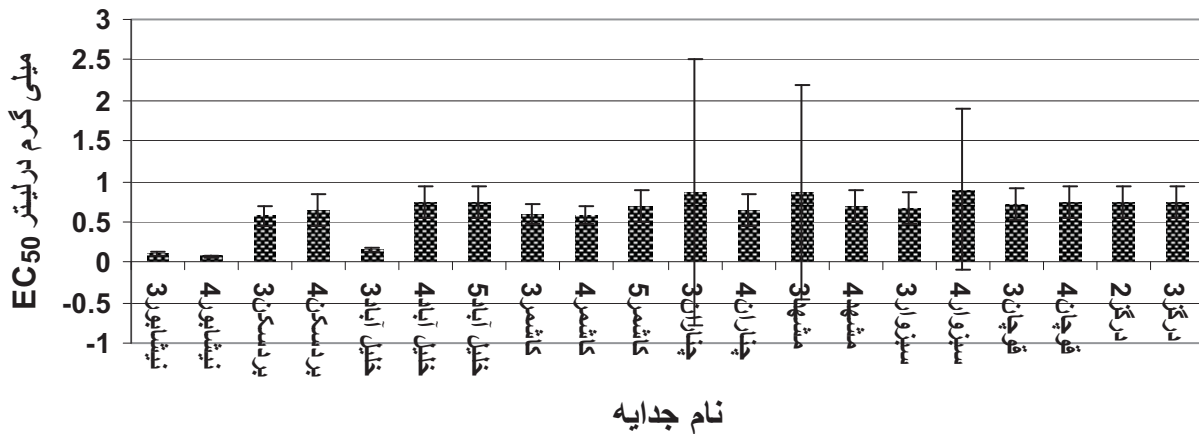
شکل ۵ - تغییرات میزان EC_{50} بدست آمده از منحنی های دوز- پاسخ جدایه های *E. necator* نسبت به پنکونازول



شکل ۶ - منحنی واکنش *E. necator* در برابر دوزهای مختلف پنکونازول در سه ناحیه (A: شهرستان های مشهد، چناران، قوچان و درگز، B: شهرستان های نیشابور و سبزوار، C: شهرستان های خلیل آباد، کاشمر و بردسکن)



شکل ۷ - تغییرات میزان EC₅₀ جدایه‌های مرحله آسکوسپوری *E. necator* نسبت به پنکونازول



شکل ۸ - تغییرات میزان EC₅₀ جدایه‌های مرحله کنیدیایی *E. necator* نسبت به پنکونازول

نتیجه‌گیری

تواند به تدریج باعث بروز و گسترش مقاومت در بین جمعیت‌های *E. necator* شده باشد. بیشترین مقادیر EC₅₀ در بین تمامی جدایه‌های *E. necator* برای پنکونازول و هگزاکونازول به ترتیب برابر ۰/۹۳۲ و ۳/۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر (شکل ۱ و ۵) بود و مقادیر EC₅₀ برای پنکونازول نسبت به هگزاکونازول در تمامی مناطق کمتر بود، این موضوع ممکن است به علت فعالیت ذاتی بیشتر پنکونازول در کنترل بیماری نسبت به هگزاکونازول باشد.

همچنین جدایه‌هایی با مقادیر EC₅₀ مشابه به هر دو قارچ‌کش در تمامی مناطق مورد مطالعه استان دیده شدند، که ممکن است به علت بالا بودن میانگین درجه حرارت این مناطق در ماه‌های تابستان باشد که نرخ بالاتر رشد قارچ را در طی مراحل کنیدیایی آن و فرآیند انتخاب برای مقاومت را نشان می‌دهد. شرایط اقلیمی در نواحی انگورکاری سطح استان ممکن است بتواند علت اختلاف در مقاومت بین جدایه‌های *E. necator* نسبت به قارچ‌کش‌های هگزاکونازول و پنکونازول را توضیح دهد، علاوه بر این فاکتورهایی مانند مقاومت

در این تحقیق مقاومت ۳۷ جدایه قارچ *E. necator* به قارچ‌کش‌های پنکونازول و هگزاکونازول در نه شهرستان در استان خراسان رضوی ارزیابی شد. در مورد مقاومت نسبت به این قارچ‌کش‌ها اطلاعات قابل دسترس پس از کاربرد آنها در این استان وجود نداشت ولی استفاده وسیع از برخی از این قارچ‌کش‌ها (پنکونازول) و افزایش تدریجی غلظت کاربردی آنها به دو برابر بیشتر از مقادیر توصیه شده (۱۲۵ میلی‌گرم در لیتر) توسط زارعین برای کنترل این بیماری می‌تواند نشان‌دهنده بروز مقاومت به این قارچ‌کش باشد. در استان خراسان رضوی، شیوع این بیماری به صورت دائم وجود دارد و استفاده از قارچ‌کش‌های ضد سنتز ارگوسترول برای کنترل این بیماری متداول می‌باشد. پس از ثبت این قارچ‌کش‌ها بر روی انگور برای کنترل بیماری سفیدک سطحی، بسیاری از باغداران از پنکونازول به عنوان یک قارچ‌کش موثر در مقادیر بیشتر از میزان توصیه شده استفاده می‌کنند. این موضوع می

احتمال دارد حتی این مقاومت در مناطقی که قارچ به شکل غیرجنسی زمستان گذرانی می کند نیز وجود داشته باشد. همچنین ثابت شده است که *E. necator* می تواند مقاومت به قارچ کش ها را در بین جمعیت های خود همانند *E. graminis f. sp. hordei* در اروپا نگه دارد (۹ و ۲۲).

کاربرد سولفور در تناوب با قارچ کش های گروه ضد سنتز ارگوسترول که مقاومت به آنها دیده نشده است کنترل بهتر بیماری را نشان می دهد (۹)، این نتایج نشان داد که می توان از حداکثر میزان قارچ کش توصیه شده این گروه در تناوب با سولفور بعد از دو کاربرد این قارچ کش ها استفاده کرد (۱۰). همین نتایج در استفاده از قارچ کش های ضد سنتز ارگوسترول برای کنترل بیماری لکه سیاه سیب ناشی از *Ventura inaequalis* به دست آمده است (۱۳) یعنی کاربرد قارچ کش های ضد سنتز ارگوسترول به تنهایی در تناوب با یکدیگر نمی تواند موجب کاهش نرخ رشد بیماری شود حتی اگر جمعیت جدایه های مقاوم به بیماری خیلی کم باشد اما پوشش خوب و تناوب این قارچ کش ها با سولفور به نظر می رسد که می تواند توسعه مقاومت به این قارچ کش ها را به تاخیر بیندازد (۲۳).

به طور کلی از آنجایی که در بخش عمده ای از موستان های استان حداقل یکی از این دو قارچ کش برای کنترل این بیماری (عمدتاً پنکونازول) به کار برده می شود کاهش حساسیت *E. necator* به این دو قارچ کش ممکن است از طریق فشار انتخاب و بروز مقاومت تقاطعی بین این گروه از قارچ کش ها به وجود آید و در غلظت های توصیه شده برای این قارچ کش به نظر می رسد پنکونازول هنوز می تواند از ایجاد جدایه های مقاوم در منطقه جلوگیری کند، اما اگر بیماری به طور موثری کنترل نشود، ممکن است فشار انتخاب باعث حساسیت کمتر *E. necator* شود. لذا برای کنترل *E. necator* و مدیریت موفق مقاومت به این گروه از قارچ کش ها، این قارچ کش ها بایستی در غلظت ها و به روشی استفاده شوند که منجر به بروز جدایه های مقاوم در میان جمعیت های *E. necator* نشوند (۱۲) و (۱۳) همانند استراتژی که کنترل *V. inaequalis* را همراه با کاهش حساسیت به قارچ کش فناریمول، نشان داد (۱۳).

جزیی ارقام کشت شده در هر منطقه (شمال، مرکز و شمال غربی استان)، تنوع ژنتیکی جمعیت عامل بیماری، عوارض طبیعی موجود در منطقه و وجود فاصله جغرافیایی، حرکت و جابجایی کنیدی های عامل بیماری در بین مناطق می توانند در این موضوع نقش داشته باشند زیرا شرایط اقلیمی معمولاً حرکت اینوکولوم عامل بیماری به فواصل دورتر را مساعد می کند (۱۱ و ۲۲).

میانگین EC_{50} جدایه های به دست آمده از مرحله آسکوسپوری *E. necator* در مورد قارچ کش هگزاکونازول از میانگین EC_{50} به دست آمده از مرحله کنیدیایی آن بیشتر و در مورد پنکونازول برعکس بود این موضوع نشان می دهد که احتمالاً مقاومت به این قارچ کش ها در جمعیت آسکوسپوره های زمستان گذران قارچ عامل بیماری نگهداری و از نتایج جنسی به نتایج حاصل از رشد غیر جنسی عامل بیماری منتقل می شود. در ارزیابی جدایه های بدست آمده ناشی از مرحله آسکوسپوری که از مناطق مختلف جمع آوری شدند، بیشترین میزان EC_{50} برای پنکونازول مربوط به شهرستان درگز (۰/۹۳۲ میلی گرم در لیتر) بود. بیشتر بودن میزان EC_{50} مرحله کنیدیایی جدایه های *E. necator* نسبت به مرحله آسکوسپوری قارچ عامل بیماری در مورد پنکونازول (شکل ۷ و ۸) نشان می دهد احتمالاً مقاومت به این قارچ کش ها از طریق سیکل جنسی قارچ دائمی می شود، زیرا تشکیل کلیستوتسیوم های عامل بیماری از اواخر مرداد ماه در استان شروع می شوند (۴) و نوترکیبی ژنتیکی در بین جدایه های قارچ همزمان اتفاق می افتد، لذا احتمال دارد که مقاومت به این گروه از قارچ کش ها در بین جمعیت های زمستان گذران ناشی از مرحله آسکوسپوری این قارچ نگهداری شود، هم چنین احتمال دارد که بیشتر نتایج تولیدی ناشی از آسکوسپورها در ابتدای فصل، از فشار انتخاب به دلیل عدم کاربرد قارچ کش ها فرار کنند، هر چند این آسکوسپورها از آسکوکارپ های تشکیل شده در شهریور ماه و مهرماه هر سال رهاسازی شده و جمعیت هایی را بوجود می آورند که بایستی مقادیر EC_{50} آنها مشابه EC_{50} جدایه های جمع آوری شده در شهریور ماه باشد. نتایج این تحقیق نشان می دهد که بروز مقاومت در بین جدایه های *E. necator* نسبت به پنکونازول و هگزاکونازول، در استان خراسان رضوی وجود دارد و

منابع

- ۱- ارومچی س، و کالورال. ۱۳۸۱. مقایسه اثر چند قارچ کش در کنترل بیماری سفیدک سطحی مو در استان آذربایجان غربی. خلاصه مقالات پانزدهمین کنگره گیاه پزشکی ایران. ۱۶-۲۰ شهریور ۱۳۸۱ کرمانشاه. صفحه ۲۱۸.
- ۲- بهداد ا. ۱۳۶۹. بیماری های درختان میوه در ایران. چاپخانه نشاط اصفهان ۲۹۸ صفحه.
- ۳- بهداد ا، فیلسوف ف. و حسن پور ح. ۱۳۷۷. مقایسه اثر چند قارچ کش در کنترل بیماری سفیدک سطحی انگور در استان اصفهان. خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاه پزشکی ایران ۱-۵ شهریور ۱۳۷۷ کرج. صفحات ۲۱۹-۲۱۸.
- ۴- حاجیان شهری م، زاد ج، شریفی تهرانی ع، اخوت م، و صفرنژاد ع. ۱۳۸۴. بررسی نقش کلیستوتسیوم در زمستان گذرانی عامل بیماری سفیدک سطحی مو در استان خراسان. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان، سال نهم، شماره اول، صفحات ۲۳۸-۲۲۵.
- ۵- کریمی شهری م. ۱۳۸۷. بررسی کارایی چند قارچ کش جدید علیه بیماری سفیدک سطحی مو در استان خراسان. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی

۶- نوروزیان م. ۱۳۷۸. فهرست سموم مجاز کشور. انتشارات سازمان حفظ نباتات کشور. ۲۳۳ صفحه.

- 7- Braun U., Cook R. T. A. Inman A. J. and Shin H. D. 2002. The taxonomy of the powdery mildew fungi. In: The powdery mildews a comprehensive treatise (Belanger, R. R., Bushnell, W. R., Dick, A. J., Timothy L. W., Eds) The American Phytopathological Society St. Paul, Minnesota, USA. PP. 13-55.
- 8- Erickson E. O., and Wilcox W. F. 1997. Distributions of sensitivity to three sterol demetylation inhibitor fungicides among populations of *U. necator* sensitive and resistant to triadimefon. *Phytopatholgy*, 87: 784-791.
- 9- Grove G. G. 2004. Penetration of powdery mildew in vineyards of eastern Washington. *Plant Disease*, 88:242-247.
- 10-Gubler W. D., Ypema H. L. Ouimette D. G. and Bettiga L. J. 1996. Occurrence of resistance in *Uncinula necator* to triadimefon, myclobutanil and fenarimol in California grapevines. *Plant Disease*, 80: 902-909.
- 11-Hermansen J. E. Torp U. and Prahm L. P. 1978. Studies of transport of live spores of cereal mildew and rust fungi across the North Sea. *Grana*, 17: 41-46.
- 12-Koller W., and Wilcox W. F. 2000. Interactive effects of dodine and the DMI fungicide fenarimol n the control of apple scab. *Plant Disease*, 84: 863-870.
- 13-Koller W., Wilcox W. F. and Jones A. L. 1999. Quantification, persistence, and status of dodine resistance in New York and Michigan orchard populations of *Venturia inaequalis*. *Plant Disease*, 83: 66-70.
- 14-Koller. W., 1995. Managing resistance to sterol demethylation Inhibitors. Pages 340-346 in: Int. Congr. Pestic. Chem, Options 2000, 8th, Conf. Proc. Ser, American Chemical society, Washington D. C.
- 15-Leroux P., Gredt M. and Bpeda P. 1988. Resistance to inhibitors of sterol biosynthesis in field isolates or laboratory strains of the eyespot pathogen *Pseudocercospora herpotrichoides*. *Pesticides Science*, 23: 119-129.
- 16-Nortover J., and Homeyer C. A. 2001. Detection and management of myclobutanil resistant grapevine powdery mildew (*U. necator*) in Ontario. *Canadian Journal Plant Pathology*, 23: 337-345.
- 17-Pearson R. C., and Taschenberg E. F. 1980. Benomyl resistant strains of *Uncinula necator* on grapes. *Plant Disease*, 64: 677- 680.
- 18-R Development Core Team. 2010. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- 19-Savocchia S., Stummer B. Scott E. and Wicks T. 1999. Detection DMI resistance among population of powdery mildew fungus. *The Australian Grape grower and winemaker*, 424:34 - 41.
- 20-Seefeldt S. S., Jensen J. E. and Fuerst E. P. 1995. Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. *Weed Technology*, 9: 218-227.
- 21-Streibig J. C., Rudemo M. and Jensen J. E. 1993. Dose-response curves and statistical models. Pages 29-55 In: J. C. Streibig and P. Kudsk, (eds). *Herbicide Bioassays*. London: CRC.
- 22-Wolfe M. S., and McDermott J. M. 1994. Population genetics of plant pathogen interactions: The example of the *Erysiphe graminis-Hordeum vulgare* pathosystem. *Annual Review Phytopathology*, 32: 89-113.
- 23-Ypema H. L., Ypema, A. and Gubler W. D. 1997. Sensitivity of *Uncinula necator* to benomyl, triadimefon, myclobutanil and fenarimol in California. *Plant Disease*, 81:243-247.