

## پراکنش قارچ *Polymyxa betae* ناقل ویروس ریشه گنایی چغندر قند در استان‌های اصفهان، آذربایجان غربی و خراسان رضوی

صادق جلالی<sup>۱\*</sup>، حمید افضلی<sup>۲</sup>، عباسعلی روانلو<sup>۳</sup>، هادی کریمی پورفرد<sup>۱</sup>، ناصر بیک‌زاده<sup>۲</sup> و حسن الماسی<sup>۱</sup>

۱- بخش تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان

۲- بخش تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان

۳- بخش تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی

تاریخ پذیرش: ۸۷/۶/۳

تاریخ دریافت: ۸۷/۳/۲۶

### چکیده

قارچ *Polymyxa betae* ناقل ویروس عامل بیماری ریشه گنایی چغندر قند (*Beet rhizomania*) می‌باشد. این قارچ خاکزی بصورت انگل اجباری روی ریشه‌های چغندر قند و دیگر گیاهان خانواده *Chenopodiaceae* زندگی می‌کند و با تولید اسپورهای مقاوم (*Cystosori*) قادر است سالها در خاک بصورت غیر فعال باقی مانده و به راحتی توسط خاک، اندام آلوده گیاهی و ماشین آلات کشاورزی انتقال یابد. نظر به اهمیت این بیماری در زراعت چغندر قند، مطالعاتی روی پراکنندگی قارچ ناقل طی سال‌های ۸۲-۱۳۸۱ در استان اصفهان، خراسان و آذربایجان غربی انجام شد. نمونه‌های خاک جمع‌آوری شده از مزارع چغندر قند با حجم مساوی از ماسه استریل مخلوط و بذر چغندر قند رقم حساس CV-P22 در آنها کشت شد. هشت هفته بعد، برای تعیین میزان آلودگی بوته‌ها به قارچ *P. betae*، ریشه‌های چغندر قند پس از شستشو در آب روان، در محلول اسید فوشین در لاکتوفنل رنگ آمیزی و توسط میکروسکوپ نوری مطالعه شد. نتایج بررسی ۲۸۹ نمونه خاک مزارع چغندر قند اصفهان نشان داد که بیشترین آلودگی مربوط به قلعه اسلام آباد با ۴۵/۷ درصد نمونه آلوده بود. همچنین از تعداد ۳۵۲ نمونه خاک مزارع چغندر قند آذربایجان غربی تعداد ۷۹ نمونه آلوده به قارچ بود. حداکثر آلودگی در منطقه چغندر کاری، قره ضیاءالدین با ۳۱/۸ درصد تعیین شد. با نمونه برداری از ۲۳ منطقه در استان خراسان مشخص گردید که آلودگی قارچ *P. betae* در نواحی شمالی شدیدتر است. در مناطق چناران، تربت جام، شیروان، قوچان، فریمان و سبزوار بیش از ۵۰ درصد نمونه‌ها، آلودگی به قارچ را نشان دادند. مشاهدات میکروسکوپی نشان دهنده پتانسیل بالای این قارچ در آلوده نمودن ریشه‌های ظریف چغندر قند در گلخانه بود به طوریکه میزان اسپور مقاوم در هر گرم ریشه بیش از ۴۸۰ عدد شمارش شد. با توجه به گسترش وسیع این قارچ در خاک‌های بررسی شده، انتشار ویروس عامل بیماری ریشه گنایی در کلیه مناطق چغندر کاری استان اصفهان، آذربایجان غربی و شمال استان خراسان رضوی اجتناب ناپذیر می‌باشد.

کلمات کلیدی: *Polymyxa betae*، ریشه گنایی چغندر قند، مناطق آلوده و غیر آلوده

Email: Sjalali69@yahoo.com

\*نویسنده مسئول:

تحقیق حاضر برگرفته از طرح تحقیقاتی: بررسی پراکنندگی قارچ *Polymyxa betae* ناقل بیماری ویروسی ریشه‌ریشی در خاک مزارع چغندر قند به

شماره ۰۲۴-۸۱-۰۳-۷۹-۱۱-۱۰۰ موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی می‌باشد

## مقدمه

شروع و پس از تماس آنها با ریشه‌های فرعی میزبان در آن نفوذ کرده و آنرا آلوده نمایند، هر چند در بعضی از گونه‌ها هنوز مکانیزم ایجاد آلودگی نامشخص است (۷). خروج اسپورهای متحرک از بافت میزبان در جنس‌های مختلف متفاوت است و در گونه *P. betae* آزاد شدن آنها از طریق لوله‌های خروج (Exit tube) می‌باشد (۸). درجه حرارت بهینه رشد در گونه *P. betae* برابر با ۲۵ درجه سانتیگراد است و در دمای کمتر از ۱۰ درجه سانتیگراد و بیش از ۳۰ درجه سانتیگراد رشد آن متوقف می‌گردد (۱۱).

وقوع همزمان اسپور متحرک و اسپورهای مقاوم بیانگر این مطالب است که تشکیل اسپورهای مقاوم به سن گیاه یا تغییر شرایط محیطی ارتباط ندارد (۳). بر اساس گزارش فوجی ساوا انتقال ویروس توسط قارچ ناقل زمانی صورت می‌گیرد که تعداد اسپورهای قارچ در هر گرم ریشه بیش از ۱۵۰ عدد باشد (۱۷). تمامی اسپورهای مقاوم قارچ، آلوده به ویروس نبوده و تنها در شرایط مساعد ۱۰ الی ۱۵ درصد این اسپورها حاوی ویروس می‌باشند، در یک آزمایش مزرعه‌ای درصد آلودگی اسپورهای مقاوم قارچ به ویروس مذکور بین ۱ تا ۱۲ درصد تعیین گردیده (۲۷).

دامنه میزبانی ویروس و ناقل آن در طبیعت محدود به انواع چغندر و اسفناج می‌باشد ولی ویروس بطور مکانیکی در ۸۴ گونه متعلق به ۱۶ خانواده گیاهی منتقل شده است (۲۵).

علف‌های هرز مانند *Chenopodium album*، *Atriplex patula* و *Silene alba* بعنوان میزبان‌های این قارچ در طبیعت شناخته شده‌اند (۹). علاوه بر آن علف‌های هرز دیگری مانند *Portulaca oleracea*، *Amaranthus retroflexus* و *P. grandiflora* به ترتیب میزبان‌های گونه‌های اختصاصی *P. betae* f.sp. *amaranthi* و *P. betae* f.sp. *portulacae* می‌باشند که قادر به انتقال ویروس BMYYV نیستند (۶).

بیماری ریشه گنایی (Rhizomania) و ناقل آن قارچ *Polymyxa betae* Keskin از عوامل مهم خسارت زا در زراعت چغندر قند می‌باشد (۱۷). ویروس عامل بیماری ریشه گنایی بنام ویروس نکروتیک زرد رگبرگ چغندر قند (Beet Necrotic Yellow Vein Virus (BNYVV)، از گروه Furovirus می‌باشد، اعضاء این گروه همگی دارای پیکره‌های میله‌ای شکل چند تایی و ژنوم‌های چندگانه می‌باشد. اندازه ویروس در چهار طول متفاوت ۸۵، ۱۰۰، ۲۶۵ و ۳۹۰ و عرض ۲۰ نانومتر می‌باشد که توسط تامادا توصیف شده است (۲۶). قارچ ناقل ویروس، به صورت انگل اجباری روی ریشه انواع چغندر قند و اسفناج زندگی می‌کند، یکی از اعضای خانواده *Plasmodiophoraceae* بوده که تمامی گونه‌های آن خاکریزی و از انگل‌های داخلی و اختصاصی گیاهان آوندی می‌باشند و معمولاً موجب غیر طبیعی شدن سلول‌های میزبان خود می‌گردند (۷). مرحله غیر جنسی در آنها بصورت تشکیل پلاسمودیوم در داخل سلول‌های میزبان است که معمولاً به صورت پلاسمودیوم‌های مولد اسپورانژیوم بوده و درون آنها زئوسپورها بوجود می‌آیند که قادرند به ریشه گیاه میزبان حمله نمایند. بعضی از گونه‌ها دارای پلاسمودیوم‌های مولد سیست بوده که درون آنها اسپورهای مقاوم که اصطلاحاً به آن (Cystosori) گفته می‌شود تشکیل می‌گردد (۷). این اسپورها قادرند تا ۲۰ سال در خاک خشک به صورت غیرفعال باقی مانده و براحتی توسط خاک، ماشین‌آلات، آب، بقایای گیاهی و کودهای دامی انتشار یابند (۲۰). برای مثال انتشار بیماری در فرانسه که در سال ۱۹۷۱ چند هکتار بوده است تا سال ۱۹۸۳ به بیش از ۶۰۰۰ هکتار رسیده است (۲۴). اسپورهای مقاوم به شکل هشت ضلعی و در دسته‌های ۴ تا ۲۵۰ عددی تنها در سلول‌های بافت اپیدرم تشکیل می‌گردند (۲۲). چرخه زندگی در اغلب گونه‌ها با جوانه زدن اسپور مقاوم و تبدیل آنها به اسپور متحرک در حضور ترشحات ریشه میزبان

مزارع در هر منطقه بسته به سطح زیر کشت (حداقل دو مزرعه در هر منطقه) بطور تصادفی انتخاب و برای نمونه برداری ابتدا به ازای هر هکتار تعداد ۵ زیر نمونه (Sub sample) با حرکت زیگزاگ (W) از عمق صفر تا ۳۰ سانتی متر برداشت و پس از مخلوط کردن آن یک نمونه ۴ تا ۴ کیلویی درون کیسه پلاستیک ریخته شد و پس از درج مشخصات مزرعه در روی کارت، کیسه‌ها توسط ماشین دوخت منگنه و به گلخانه منتقل شد.

#### ب- بررسی‌های گلخانه‌ای

نمونه‌های خاک بصورت منفرد باز و از هر نمونه یک پیمانه (حدود یک کیلوگرم) خاک برداشته و درون تشتک‌های پلاستیکی با ماسه استریل (به نسبت مساوی) مخلوط گردید (۲۳) و درون گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۴ سانتی متر ریخته شد (از هر نمونه خاک دو گلدان) و سپس درون آنها ۱۰ عدد بذر چغندر قند رقم تجاری Cv.P22 که به بیماری حساس است به مدت یک دقیقه با هیپوکلراید سدیم ده درصد ضد عفونی و توسط آب مقطر استریل شستشو، سپس کشت و هر ۴ روز یکبار آبیاری شد. دمای گلخانه در روزها  $25 \pm 3$  و در شب‌ها  $20 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد بود. پس از سبز شدن بوته‌ها در هر گلدان ۴ بوته نگهداری و بوته‌های اضافی حذف گردید. فضای گلخانه هر دو هفته یک بار توسط حشره کش متاسیستوکس جهت جلوگیری از فعالیت حشرات مکنده از قبیل شته‌ها، سفید بالک و کنه سم‌پاشی گردید.

بیماری ریشه‌گنایی از کشورهای ژاپن (۲۶)، آلمان (۱۸)، سوئد (۱۹)، رومانی (۱۵) و ترکیه (۲۸) گزارش شده است. خسارت ناشی از بیماری اغلب از ۳۰ درصد تجاوز نموده و گاهی تا ۱۰۰ درصد عملکرد ریشه می‌رسد، خسارت در خاک‌های سنگین و سال‌هایی که بارندگی‌های بهاره زیاد باشد افزایش می‌یابد (۱۶).

در ایران بیماری از مناطق مختلف چغندرکاری استان فارس از جمله زرقان، ممسنی، داراب، فسا و مرودشت مشاهده شده است (۱). حداکثر آلودگی در منطقه مرودشت با ۱۱ مزرعه که بطور صددرصد آلودگی به ویروس را نشان می‌داد مشاهده شده است (۴). با بررسی ۱۵۲ نمونه خاک از مناطق مختلف چغندرکاری استان فارس، مشخص گردیده که جمعیت قارچ *P. betae* در خاک مناطق مختلف متفاوت بوده است بطوریکه مناطقی مانند فیروزآباد، کربال، مرودشت و داراب تراکم آلودگی بسیار بالا و در مناطقی مانند سپیدان و بیضا آلودگی به قارچ مذکور مشاهده نشده است (۵). در سال ۱۳۷۶ در منطقه سمیرم از مزارعی که دارای بوته‌های بسیار ضعیف و برگ‌های زرد با رگبرگ‌های نکروزه داشت نمونه برداری و آلودگی بوته‌ها به قارچ ناقل به اثبات رسید (۲).

از آنجایی که پراکنندگی ناقل در مناطق مهم چغندرکاری اصفهان، آذربایجان غربی و خراسان ناشناخته بود، ضرورت داشت با انجام طرح تحقیقاتی میزان پراکنندگی قارچ ناقل در مناطق مذکور مشخص شود تا نقاط آلوده به قارچ تعیین و برای مناطق آلوده ارقام متحمل به بیماری استفاده گردد.

#### مواد و روش‌ها

##### الف- انتخاب مزارع و نمونه برداری

طی سال‌های ۱۳۸۲ - ۱۳۸۱ از مناطق مختلف چغندرکاری اصفهان، آذربایجان غربی و خراسان به ترتیب ۲۸۹، ۳۵۲ و ۲۷۳ نمونه خاک برداشت شد (جدول ۱ و ۲).

جدول ۱- آلودگی مزارع مختلف چغندرکاری استان اصفهان به قارچ *P. betae* طی سالهای ۸۲-۱۳۸۱

نام محل	سطح نمونه برداری (هکتار)	تعداد نمونه	تعداد نمونه آلوده	برآورد سطح آلوده (هکتار)	درصد نمونه آلوده
اردستان	۳	۳	۰	۰	۰
اسکان عشایر	۱۸	۱۸	۱	۱	۵/۵۵
برخوار	۴	۴	۰	۰	۰
جعفرآباد	۱۵	۱۷	۰	۰	۰
دشت سهران	۵۰/۵	۶۱	۸	۷۹	۱۳/۰۶
دشت هوریان	۱۰	۱۰	۰	۰	۰
رودخانه رحیمی	۱۹	۱۹	۰	۰	۰
رودشت	۶/۵	۷	۰	۰	۰
رگه حنا	۱۵/۵	۱۶	۱	۰/۹۷	۶/۲۶
قلعه اسلام	۲۳/۵	۲۴	۱۱	۱۰/۸	۰/۴۰
قبرکینخا	۲۴	۲۴	۰	۰	۰
قلعه سنگی	۱۰/۵	۱۱	۰	۰	۰
قلعه میرشفیعی	۱۰	۱۰	۰	۰	۰
گاو تپه	۶۱	۶۲	۴	۳/۹۳	۶/۴۴
مهبیار	۲	۲	۰	۰	۰
مبارکه	۱	۲	۲	۲	۲
مجموع		۲۸۴	۲۹۰	۲۵	۲۴/۶

جدول ۲- آلودگی مزارع مختلف چغندرکاری استان آذربایجان غربی به قارچ *P. betae* طی سالهای ۸۲-۱۳۸۱

نام محل	سطح نمونه برداری (هکتار)	تعداد نمونه	تعداد نمونه آلوده	برآورد سطح آلوده (هکتار)	درصد نمونه آلوده
ارومیه	۱۸	۱۸	۴	۴	۲۲/۲۲
اشنویه	۷	۷	۰	۰	۰
پیرانشهر	۴	۴	۴	۴	۴
چالدران	۸	۸	۰	۰	۰
خوی	۱۳۰	۱۳۲	۳۸	۳۴۵	۲۶/۵۴
سلماس	۴۰	۴۱	۱۰	۹/۷	۲۴/۲۵
قره ضیاءالدین	۱۰۰	۱۰۷	۳۴	۸/۳۱	۳۱/۸۰
ماکو	۱۶	۱۶	۰	۰	۰
محمدیار	۶	۶	۱	۱	۱۶/۶۷
نقده	۳	۱۳	۲	۲	۱۵/۳۸
مجموع	۳۴۳	۳۵۲	۷۹	۸۳	۲۴/۲۰



### ج- بررسی‌های آزمایشگاهی

پس از گذشت ۸ هفته از سن بوته‌های چغندر کاشته شده، از هر نمونه خاک یک گلدان انتخاب و بوته‌های چغندر قند با ریشه از خاک بیرون آورده شد، ریشه‌ها درون کیسه‌های پلاستیک ۱۵×۱۰ سانتی‌متری جمع‌آوری و درون یخچال قرار داده شد تا به تدریج بررسی گردند.

جهت بررسی ریشه‌ها و ردیابی قارچ ناقل ابتدا ریشه‌های مربوط به هر نمونه درون ظروف یک‌بار مصرف به مدت ۱۰ دقیقه درون آب خیسانده شد تا بقایای خاک کاملاً از آنها جدا گردد، ریشه‌ها در محلول اسید فوشین ۰/۰۵ درصد در لاکتوفنل به مدت یک دقیقه جوشانده (۲۵) و سپس با استفاده از اسکارپیل از هر نمونه ریشه ۱۰ قطعه ۰/۵ سانتی‌متری جدا و روی لام میکروسکپ قرار گرفت و توسط میکروسکپ نوری با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ مشاهده و از نظر آلودگی به اسپورهای مقاوم قارچ که بصورت وجود سیستهای ۸ ضلعی مجتمع بود بررسی شد. همچنین جهت اندازه‌گیری تراکم اسپورهای مقاوم قارچ در هر گرم ریشه، از هر نمونه آلوده یک بوته انتخاب و ریشه‌های آن توزین و پس از رنگ‌آمیزی تعداد اسپورهای مقاوم آن شمارش و میزان اسپور در هر گرم ریشه مشخص شد.

### د- بررسی آلودگی به ویروس BNYVV

به منظور ردیابی ویروس BNYVV عامل بیماری ریشه‌گنایی ریشه‌های چغندر قند پرورش یافته در گلخانه که آلودگی به قارچ ناقل رانشان داده بود طبق روش (۲۱) عصاره‌گیری شد و عصاره‌های مذکور در مقابل آنتی‌سرم ویروس تهیه شده از شرکت بیوربا سوئیس با روش سرولوژیک الیزا بررسی شد.

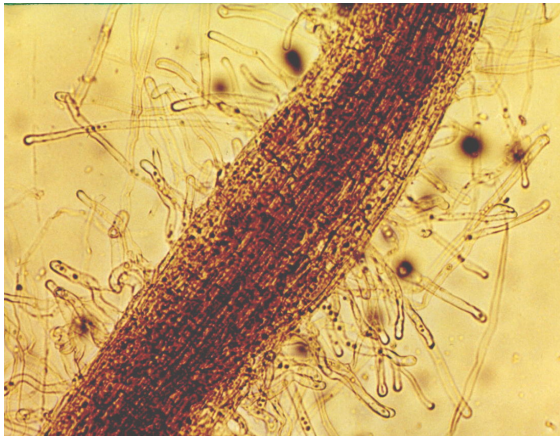
برای این کار ابتدا آنتی‌بادی IgG به نسبت ۱ به ۱۰۰۰ در بافر پوششی رقیق و ۲۰۰ میکرولیتر از آن به هر یک از چاهک‌های بشقابک الیزا اضافه گردید و به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از

جمع‌آوری آنتی‌بادی پوششی، پلیت‌ها سه بار توسط بافر شستشو و خشک گردید و سطح آن توسط پارافیلیم پوشانده و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

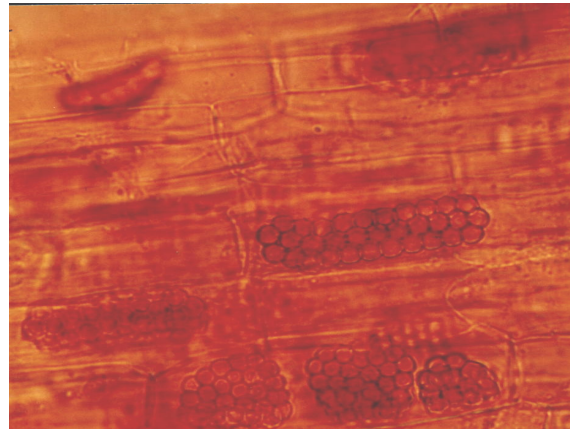
از ریشک‌های ظریف اطراف ریشه اصلی بوته‌های چغندر قند که آلودگی به قارچ ناقل بود در بافر استخراج به نسبت ۱ به ۱۰ عصاره‌گیری و مقدار ۲۰۰ میکرولیتر آن به هر چاهک در دو تکرار اضافه و به مدت یک شب درون یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری و سپس بشقابک‌ها کاملاً شستشو گردید. در هر بشقابک الیزا دو چاهک به عنوان شاهد سالم انتخاب و درون آنها از عصاره ریشه چغندر قند که در خاک استریل در گلخانه پرورش یافته بود استفاده شد. آنتی‌بادی متصل به آنزیم به نسبت ۱ به ۱۰۰ در بافر رقیق و به چاهک‌ها اضافه شد و به مدت سه ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. برای تهیه بافر سوستر، مقدار یک میلی‌گرم پارانیتروفنیل فسفات در یک میلی‌لیتر بافر حل و مقدار ۲۰۰ میکرولیتر آن به هر یک از چاهک‌ها اضافه و بشقابک‌ها به مدت یک ساعت در شرایط تاریکی و دمای اتاق قرار گرفت و سپس توسط دستگاه الیزا خوان مدل آنتوس در طول موج ۴۰۵ نانومتر، میزان جذب هر چاهک قرائت شد. سطح آستانه آلودگی هر نمونه دو برابر میانگین جذب چاهک‌های سالم در نظر گرفته شد (۲۳).

### نتایج و بحث

آلودگی ریشه‌های فرعی بوته‌های چغندر قند بعد از ۸ هفته بصورت وجود اسپورهای مقاوم قارچ قابل مشاهده بود. این اسپورها ۸ ضلعی و بصورت ردیف‌های ۲ تا ۵ تایی به تعداد ۴ تا ۲۵۰ عدد در سلول‌های بافت اپیدرم مشاهده گردید (شکل ۱). همچنین لوله‌های خروج Exit-tubes فراوانی از سطح ریشه‌های فرعی بیرون آمد و اسپورهای متحرک در آنها مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲- لوله‌های خروج بیرون زده از سطح ریشه‌های فرعی به همراه اسپور متحرک درون آن (بزرگنمایی ۶۰۰ برابر).



شکل ۱- اسپورهای مقاوم قارچ *P. betae* بصورت تجمعی درون سلولهای بافت اپیدرم ریشه (بزرگنمایی ۶۰۰ برابر)



شکل ۳- بوته چغندر قند آلوده به قارچ *P. betae* و ویروس BNYVV

محمدیار، اشنویه، سلماس، خوی، قره ضیاءالدین و نقده از تعداد ۳۵۲ نمونه خاک تعداد ۷۹ نمونه آلوده به قارچ ناقل بوده است (۲۲/۴ درصد).

بیشترین نمونه آلوده مربوط به منطقه قره ضیاءالدین با ۳۱/۸ درصد بود. آلودگی در مناطق اشنویه و پیرانشهر، چالدران و ماکو مشاهده نشد. آلودگی مزارع چغندرقلید در استان خراسان (جدول ۳) نشان داد که میزان آلودگی در مناطق شمالی شدیدتر از نواحی جنوبی است. این بر اساس حداکثر تعداد نمونه آلوده در منطقه چناران با ۷۸/۵۷ درصد و در مناطق تربت حیدریه، سبزوار، شیروان، فریمان، قوچان و مشهد بیش از ۵۰ درصد تعیین شد. آلودگی به این قارچ در مناطق بردسکن، بیرجند، فردوس، کاشمر و نهبندان مشاهده نشد و اعمال موازین استاندارد بین الملل قرنطینه ای مناطق عاری از آفت برای این مناطق ضروری است.

تراکم اسپورهای مقاوم قارچ در هر گرم ریشه در منطقه چناران نسبت به سایر مناطق بیشتر و بطور متوسط ۲۱۰ عدد اسپور در هر گرم ریشه شمارش شد. آلودگی به ویروس BNYVV در چناران و شیروان نسبت به سایر مناطق بیشتر و به ترتیب ۶۰ و ۵۸ درصد و در سبزوار، قوچان و فریمان ۵۰ درصد در تربت حیدریه، اسفراین، تربت جام، مشهد، درگز، مشهد، نیشابور، بجنورد، سرخس و جاجرم بین ۴۵ تا ۱۰ درصد در بوته‌های چغندرقلید کشت شده در خاک‌های آلوده تعیین گردید.

آلودگی به ویروس BMYVV در مناطق نهبندان، گناباد، کاشمر، فردوس، بیرجند و بروسکن مشاهده نشد. بر اساس مطالعات هیجبروک (۲۰) قارچ *P. betae* براحتی توسط خاک‌های همراه با ماشین‌آلات کشاورزی قابل انتقال از زمین‌های آلوده به مزارع سالم شده است، اسپورهای مقاوم این قارچ حتی با خاک‌های همراه با غده‌های سیب‌زمینی بذری کشت شده در مزارع آلوده انتقال یافته است. او همچنین گزارش نموده است که اسپورهای قارچ بصورت فعال از کود تازه دامی که از بقایای گیاهی آلوده به قارچ تغذیه نموده‌اند جدا شده است، بنابراین در مزارع

نتایج حاصل از شمارش اسپورهای مقاوم قارچ در ریشه‌های ۶۰ روزه چغندرقلید کشت شده در خاک‌های آلوده نشان داد که تراکم قارچ ناقل در مناطقی که آلودگی وجود دارد بسیار زیاد، و بین ۴۸۰-۱۶۴ اسپور در هر گرم ریشه شمارش شد. مشاهدات میکروسکوپی ریشه‌ها نشان دهنده پتانسیل بالای *P. betae* در آلوده نمودن ریشه‌های ظریف چغندرقلید در گلخانه بود.

از مجموع ۲۸۹ نمونه خاک جمع آوری شده از مناطق مختلف چغندرکاری اصفهان (جدول ۱) تعداد ۲۵ نمونه آلودگی به قارچ *P. betae* را نشان دادند. بیشترین نمونه آلوده مربوط به دشت قلعه اسلام با ۴۵/۷ درصد بود. آلودگی در مناطق دشت سهران، گاو تپه و رگه حنا به ترتیب برابر با ۱۳/۱، ۶/۴ و ۶/۲ درصد برآورد شد. از تعداد ۲۵۷ بوته آلوده به قارچ ناقل، ۸۱ نمونه آلودگی به ویروس BNYVV را نشان دادند. ریشه‌های آلوده به قارچ اغلب هویجی شکل با ریشه‌های مویی فراوان و برگ‌های نکروزه مشاهده شد (شکل ۳). بیشترین میزان آلودگی به ویروس در قلعه اسلام و دشت سهران مشاهده شد.

پراکنش این قارچ در استان اصفهان نشان داد که حداکثر آلودگی در مناطقی است که سالها کشت چغندرقلید در آنها رواج دارد. در مناطقی از قبیل گاو تپه، اسکان عشایر، قلعه میرشفیعی و قبرکیخا، رودشت، برخوار، مهیار و اردستان که آلودگی به قارچ در آنها مشاهده نشده بایستی تحت قرنطینه قرار گرفته و از ورود خاک‌های برگشتی از کارخانجات قند به این مناطق جلوگیری شود. از طرف دیگر حداکثر آلودگی در منطقه قلعه اسلام مشاهده گردید که این منطقه در مسیر منطقه چغندرکاری اقلید و سایر مناطق استان فارس قرار گرفته است و شاید درصد بالای آلودگی بدلیل حمل خاک‌های برگشتی مربوط به مزارع چغندرکاری مرودشت و اقلید باشد که از کانون‌های آلودگی به بیماری ریزومانیا می‌باشند (۴).

در استان آذربایجان غربی (جدول ۲) از ۶۳ منطقه مربوط به ۱۰ ناحیه شامل ارومیه، ماکو، چالدران، پیرانشهر،



دارد، بنابراین تعیین تراکم اسپورهای آلوده به ویروس در خاک اهمیت دارد.

بر اساس نتایج سیافاردینی (۱۳) زمانی که تراکم اسپورهای مقاوم آلوده به ویروس در هر گرم خاک کمتر از پنج عدد بوده، آلودگی به ویروس در بوته‌های چغندر قند مشاهده نشده، اما در تیمارهایی که تعداد اسپورهای آلوده از مرز پنج عدد در هر گرم خاک تجاوز یافته، آلودگی در بوته‌ها شروع و با افزایش آنها شدت آلودگی نیز افزایش و اختلاف معنی‌داری را نشان داده است.

در تیمارهایی که تراکم اسپورهای آلوده بیش از ۴۰ عدد در هر گرم خاک بوده، شدت آلودگی بوته‌ها به ویروس BNYVV ثابت گردیده و تراکم‌های بیشتر اسپورهای آلوده قارچ در خاک، آلودگی‌های یکسانی را ایجاد کرده‌اند. بنابراین پیشنهاد می‌گردد به منظور تعیین وقوع آستانه آلودگی به ویروس BNYVV در مزارع چغندر قند، تراکم اسپورهای مقاوم آلوده به ویروس در این مزارع مشخص شود.

### سپاسگزاری

بدین وسیله نگارندگان از مراکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان، آذربایجان غربی و خراسان همچنین مدیریت‌های جهاد کشاورزی بخاطر کمک در امر نمونه‌برداری و همچنین مدیریت حفظ نباتات استان اصفهان بخاطر خریداری آنتی سرم مربوط به ویروس ریزومانیا تشکر می‌نمایند.

چغندر قند که اغلب پس از برداشت توسط گوسفند چرانیده می‌شود باعث افزایش ریسک انتقال قارچ *P. betae* از یک مزرعه به مزرعه دیگر یا از یک منطقه به منطقه دیگر می‌شود. سرعت انتشار قارچ مذکور از کانون‌های آلودگی به مناطق غیر آلوده نیز بسیار بالاست. برای مثال در فرانسه که آلودگی ابتدا در سال ۱۹۷۳ تنها در چند منطقه محدود در نواحی شرقی آن کشور (Bas-rhin) مشاهده و گزارش شده است در سال ۱۹۷۷ آلودگی تا نواحی اطراف پاریس انتشار یافته و سطح آلودگی آن بالغ بر ۱۰۰۰ هکتار شده و سرانجام تا سال ۱۹۸۳ میزان آلودگی مزارع چغندر قند آن کشور به بیش از ۶۰۰۰ هکتار رسیده است (۲۴). فوجی ساوا و سوگیموتو (۱۷) گزارش نمودند زمانی که تعداد اسپورهای مقاوم کمتر از ۵۰ عدد در گرم ریشه باشد ویروس BNYVV منتقل نمی‌گردد. امکان انتقال ویروس زمانی میسر می‌شود که تعداد اسپورهای مقاوم به ۱۵۰ عدد رسیده و حداکثر انتقال ویروس به بوته‌های چغندر قند زمانی بوده که تعداد اسپورهای مقاوم به ۲۵۰ عدد در هر گرم ریشه رسیده است.

سیافاردینی و مارتوتا (۱۴) با مقایسه روش مستقیم اندازه‌گیری میزان آلودگی خاک به اسپورهای مقاوم قارچ با روش رقیق سازی نمونه های خاک با ماسه استریل به منظور تعیین متحمل ترین تعداد اندام آلودکننده قارچ، Most-Probable-Number (MPN) در خاک، بیان نموده اند که در روش مستقیم، تنها وجود یا عدم وجود آلودگی خاک به قارچ ناقل مشخص می‌گردد، در صورتیکه در روش MPN تراکم جمعیت اسپورهای مقاوم قارچ در هر گرم خاک تعیین می‌شود. آنها همچنین نمونه برداری از خاک نسبت به نمونه برداری از ریشه و بقایای گیاهی را برای تعیین میزان آلودگی دقیق تر می‌دانند. از طرف دیگر چون وقوع آلودگی بوته های چغندر قند به ویروس BNYVV و شدت آن بستگی به میزان تراکم اسپور های آلوده به ویروس در خاک



جدول ۳- آلودگی مزارع مختلف چغندرکاری استان خراسان رضوی به قارچ *P. betae* طی سال‌های ۸۲-۱۳۸۱

نام محل	سطح نمونه برداری (هکتار)	تعداد نمونه	تعداد نمونه آلوده	برآورد سطح آلوده (هکتار)	درصد نمونه آلوده
اسفراین	۵/۵	۶	۳	۲/۵	۴۵/۴
بجنورد	۵/۶	۷	۲	۲	۳۰/۸
براسکن	۵/۱	۱	۰	۰	۰
بیرجند	۵/۵	۶	۰	۰	۰
تایباد	۵/۵	۴	۱	۵/۱	۲۷/۳
تربت جام	۱۴/۵	۱۲	۵	۶/۶	۴۴/۸
تربت حیدریه	۵۵	۵۴	۳۱	۳۱/۵	۵۷/۳
جاجرم	۳/۵	۴	۱	۱	۲۸/۶
چناران	۱۴	۱۳	۱۰	۱۱	۷۸/۶
خواف	۳/۵	۴	۱	۱	۲۸/۶
درگز	۳/۵	۴	۲	۱/۵	۴۲/۹
سبزوار	۴۹/۵	۵۸	۴۱	۳۳/۵	۶۷/۷
سرخس	۳	۳	۱	۱	۳۳/۳
شیروان	۳/۵	۵	۳	۲	۵۷/۱
فردوس	۱	۱	۰	۰	۰
فریمان	۱۰/۵	۱۱	۶	۵/۵	۵۲/۴
قائن	۱۴/۵	۱۵	۲	۲	۱۳/۸
قوچان	۳/۵	۴	۲	۲	۵۷/۱
کاشمر	۱/۵	۱	۰	۰	۰
گناباد	۱	۲	۱	۰/۳	۳۰
مشهد	۱۳	۱۳	۷	۷	۵۳/۸
نهبندان	۱	۱	۰	۰	۰
نیشابور	۴۲/۵	۴۲	۱۱	۱۱/۵	۲۶/۴
مجموع	۲۵۹/۵	۴۷۳	۱۳۰	۱۲۳/۳	۴۷/۵

## منابع

۱. ایزدپناه ک.، پ. هاشمی، ر. کامران، م. پاک نیت، آ. سهندپور و م. معصومی. ۱۳۷۵. وجود گسترده بیماری ریشه ریشی چغندرقلند (شبه *Rhizomania*) در فارس. مجله بیماریهای گیاهی جلد ۳۲: صفحات ۲۰۶-۲۰۰.
۲. احمدی ع. و ص. جلالی. ۱۳۷۷. وجود علائم مشابه ریشه ریشی چغندرقلند (شبه *Rhizomania*) در اصفهان. خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، کرج. صفحه ۱۲۷.
۳. جلالی ص. ۱۳۸۲. مطالعه قارچ *Polymyxa betae* ناقل بیماری ویروسی ریشه گنابی در چغندرقلند. خلاصه مقالات یازدهمین کنفرانس سراسری زیست شناسی ایران، دانشگاه ارومیه، صفحه ۲۸۵.
۴. دارابی س.، ر. کامران و ک. ایزدپناه. ۱۳۷۷. موقعیت بیماری ریشه گنابی (ریشه ریشی) چغندرقلند در استان فارس و کهگیلویه و بویراحمد. خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، کرج، صفحه ۱۲۸.
۵. کامران ر.، ک. ایزدپناه، و ع. شیروانی. ۱۳۷۹. بررسی پراکندگی *Polymyxa betae* ناقل ویروس ریشه گنابی چغندرقلند در فارس. خلاصه مقالات چهاردهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، دانشگاه صنعتی اصفهان، صفحه ۷۴.
6. Abe H. and T. Ui. 1986. Host range of *Polymyxa betae* strains in rhizomania-infested soil of sugarbeet in Japan. *Annals of the Phytopathology Society of Japan*, 52: 394-403.
7. Alexopoulos C.J., C.W. Mims and M. Blackwell. 1996. *Introductory Mycology*. 4<sup>th</sup> ed., John Wiley & Sons, Inc. 868 p.
8. Ambera V. and S. Muho. 1977. The ultra structure of *Polymyxa betae* exit-tube differentiation. *Canadian Journal of Botany*, 81: 831-839.
9. Barr K.J and M.J.C. Asher. 1996. Studies on the life-cycle of *Polymyxa betae* in sugar beet roots. *Mycological Research*, 100: 203-208.
10. Barr K.J. and M.J.C. Asher. 1992. The host range of *polymyxa betae* in Britain. *Plant Pathology*, 41: 64-68.
11. Blunt S.J., M.J.C. Asher and C.A. Gilligan. 1992. The effect of sowing date on infection of sugar beet by *Polymyxa betae*, *Plant Pathology*, 41: 148-153.
12. Blunt S.J., M.J.C. Asher and C.A. Gilligan. 1991. Infection of sugar beet by *Polymyxa betae* in relation to soil temperature. *Plant Pathology*, 40:257-267.
13. Ciafardini G. 1991. Evaluation of *Polymyxa betae* Keskin contaminated by beet necrotic yellow vein virus in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 57:1817-1821.
14. Ciafardini G. and B. Marotta. 1989. Use of the most-Probable-Number technique to detect *polymyxa betae* (Plasmodiophoromycetes) in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 55:1273-1278.
15. Codresev A., V. Ciochia and N. Vilau. 1981. Symptoms of rhizomania on sugar beet crops in Romania. *Veg. Cereal. Sipante Tehnice*, 33: 38-43.
16. Duffus J.E. 1986. Rhizomania (beet necrotic yellow vein). In: E.D. Whitney and J.E. Duffus, (Eds), *Compendium of Beet Diseases and Insects*. APS Press, pp: 29-30.
17. Fujisawa I. and T. Sugimoto. 1977. Transmission of beet necrotic yellow vein virus by *Polymyxa betae*. *Annals of the Phytopathology Society of Japan*, 43:583-586.
18. Hamdorf C., D.E. Lesemann and H.L. Weidemann. 1977. Investigation on rhizomania disease of sugar beet in the Federal Republic of Germany. *Phytopathology*, 90:97-102.
19. Hani A. and R. Bovey. 1983. Rhizomania a virus disease of beet new to Switzerland. *Review Suisse Agriculture*, 15:305-307.
20. Heijbroek W. 1988. Dissemination of rhizomania by soil, beet seeds and stable manure. *Netherland Journal of Plant Pathology*, 94:9-15.

21. **Koenig R., D.L.E. Lesemann and K. Bureky. 1984.** Beet necrotic yellow vein virus: Purification, preparation of antisera and detection by means of ELISA and electero-blot immunoassay. *Phytopathology*, 111: 244-250.
22. **Mcfarlane L. 1970.** Germination of resting spores of *Plasmodiophora brassicae*. *British Mycology Society*, 55: 97-911.
23. **Paul H., B. Henken and M.F.J. Alerlieste. 1992.** A greenhouse test for screening sugarbeet for resistance to BNYVV. *Netherland Journal of Plant Pathology*, 98:65-75.
24. **Putz C., G. Richard and M. Molard. 1984.** Rhizomania of beet a virus disease which has spread widely in France in 1983 *comptes Rendus des seances de Academic d'Agric.*, 70:370-376.
25. **Tamada T. and T. Baba. 1973.** Beet necrotic yellow vein virus from rhizomonias affected sugar beet in Japan. *Annals of the Phytopathology Society of Japan*, 39:325-328.
26. **Tamada T. 1975.** Beet necrotic yellow vein virus: Description of plant viruses. No. 144. CMI/AAB. 4 p.
27. **Tuitert G. and Y. Hofmeester. 1992.** Epidemiology of beet necrotic yellow vein virus in sugar beet at different initial inoculum levels in the presence or absence of irrigation: Dynamics of inoculum. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 98: 343-360.
28. **Vadar F.B. and S. Erkan. 1992.** The first studies on detection of beet necrotic yellow vein virus in sugarbeet in Turkey. *Journal of Turkish Phytopathology*, 21:71-76.