مجله علوم کشاورزي ايران
جلد ۳۶، شماره ۶، سال ۱۳۸۴ (۱۳۸۹-۱۳۸۱)

بررسی پایداری قارچ Erysiphe betae(Vanha) Weltzien عامل بیماری سفیدک پودری چغندرقند در منطقه کرج و قزوین

مهیار شیخ الاسلامی[۱]، سید محمود اخوت[۲]، قربانعلی حجارود[۲]، عباس شریفی تهرانی[۲] و محمد جوان نیکخواه[۳]

۱، ۲، ۳، ٤، ٥، دانشجوی دکتری، استادان و استادیار پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج

تاریخ پذیرش مقاله ۸٤/۱/۲٤

خلاصه

در این تحقیق برگهای واجد فرم جنسی (کلیستوتسیوم) وفرم غیر جنسی (کنیدیوم و میسلیوم) قارچ *Erysiphe betae* در زمان برداشت محصول جمع آوری و این برگها در شرایط طبیعی محیط نگهداری شدند. آزمایشهای مختلفی در جهت بررسی نقش کلیستوتسیوم ها و همچنین کنیدیوم ها در پایداری قارچ انجام شد. نتایج آزمایشها نشان داد که آسکوسپورها در شرایط داخل تشتک آزاد نشدند اما آزاد شدن آنها در شرایط طبیعی محیط بعد از چهار ماه از زمان برداشت اتفاق افتاد. در مورد قابلیت جوانه زنی آسکوسپورها در شرایط درون شیشه آسکوسپورها در هیچ مورد جوانه نزدند اما روی برگها جوانه زنی بصورت نادر اتفاق افتاد، ولی این آسکوسپورها پس از ۷ روز بتدریج از بین رفته و قابلیت بیماریزایی نداشتند. در مورد دوام بیماریزایی کنیدیومها روی گیاه، بعد از گذشت سه ماه همچنان قابلیت بیماریزایی داشتند اما بعد از چهار ماه بیماریزایی آنها تکرار نشد همچنین فاصله زمانی مایه زنی تا ظهور علایم با افزایش سن کنیدیومها بیشتر شد. در مورد تعیین درصد جوانه زنی کنیدیومها، بررسیها نشان داد که کنیدیومهای تازه پس از پاشیده شدن روی سطح لام بیش از ۸۰ درصد قابلیت جوانه زنی داشتند اما این مقدار بعد از دو هفته بشدت کاهش یافت و بعد از یکماه به صفر رسید اما در مورد درصد جوانه زنی روی برگها در زمانی که کنیدیومها تازه بودنداز ٤٦ درصد فراتر نرفت اما بعد از گذشت دو و چهار هفته از سن کنیدیومها این کنیدیومها بخوبی قابلیت جوانه زنی داشتند. درآزمایش پیدایش اولین علایم بیماری، اولین کنیدیومها در تاریخ سیزدهم خرداد شکار شدند ونخستین علایم بیماری در سوم تیرماه پدید آمد و پس از آن تعداد کنیدیومهای شکار شده توسط دستگاه اسپورگیر افزایش یافت. همچنین هیچگاه آسکوسپور توسط دستگاه اسپورگیر شکار نشد. نتایج این مطالعات نشان داد که اولاً آسکوسپورها نقشی در بقا قارچ ندارند، همچنین در مورد کنیدیومها اگرچه تا سه ماه قابلیت بیماریزایی خود را حفظ کردند اما با توجه به اینکه فاصله زمانی برداشت محصول تا ظهور علایم در سال بعد در مناطق معتدل بیش از ۸ ماه است بنا بر این بنظر نمی رسد این کنیدیومها بتوانند پایداری قارچ را حفظ کنند.

واژه های کلیدی: چغندر قند، سفیدک پودری، پایداری، کلیستوتسیوم، کنیدیوم

مقدمه

سفیدک پودری چغندر ازمهمترین بیماریهای قارچی این محصول در مناطق مختلف کشت چغندر قند در جهان شناخته می‌شود. این بیماری اولین بار در سال۱۹۰۳ توسط وانیا[1] از کشور چکوسلواکی سابق تحت عنوان *Microsphaera*

1 . Vañha

مکاتبه کننده: مهیار شیخ‌الاسلامی
E-mail: m1sheikh@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

betae Vañha و از آن پس ازسایرکشورهای اروپایی، آمریکا و هندوستان گزارش شده است (۱۱، ۱۸). اولین گزارش بیماری از ایران درسال ۱۳۱۷ توسط اسفندیاری بوده است (به نقل از احمدی نژاد(۱)). ولتزین براساس فعالیت انحصاری قارچ روی جنس بتا[1] وتفاوت دراندازه های آسکوکارپ عامل بیماری را *Erysiphe betae* (Vanha) Weltzien نامگذاری کرد (۲۴). از نظر دامنه میزبانی قارچ، آزمایشهای انجام شده نشان داده است که *E.betae* دارای دامنه میزبانی محدودی است. زمانیکه ۳۳ گونه گیاهی که نماینده ۱۹ جنس در ۹ خانواده بودندو با کنیدیومهای قارچ مایه زنی شدند شدت بیماری تنها روی گونه‌های جنس بتا محسوس بود. همچنین کنیدیومهای *Erysiphe* spp. از روی علف هرزهای *Rumex crispus*L. *Amaranthus retroflexus*L., و *Solanum sacchroides* Sendt. که در مزارع چغندر قند می‌رویند روی چغندر آلوده کننده نبوده اند (۲۱). در مورد بقای قارچ آزمایشهای انجام شده در آمریکا حاکی از آن بوده است که بقایای آلوده واجد میسلیوم و کنیدیومهای قارچ که در فضای باز و در خاک بمدت ۶۰ روز نگهداری شدند آلوده کننده باقی ماندند ولی بعد از ۹۰ روز نتوانستند آلودگی ایجاد کنند(۲۰). نتایج یک بررسی بر اساس نخستین گزارشها از ظهور بیماری، روشن ساخته که در نواحی جنوبی وبالتبع گرمتر اروپا پیدایش بیماری زودتر از نواحی شمالی صورت می گیرد. ینسن معتقد است که قارچ توسط باد از آلمان به دانمارک منتقل می شود و به همین دلیل است که ظهور بیماری در دانمارک یک ماه بعد اتفاق می‌افتد (۹). دراندارفسکی مجدداً این فرضیه را با مسافرت از جنوب آلمان به سمت شرق (اتریش) و جنوب (ایتالیا) تایید کرده است (۹). براساس تحقیقات انجام شده در آمریکا با توجه به توالی ظهور بیماری از جنوب به شمال و از غرب به شرق و وجود بادهای دائمی در این مسیر، همچنین دوره کوتاه زندگی قارچ، غیاب مرحله جنسی و اختصاصی بودن روی جنس بتا دلایلی هستند که حاکی از زمستان گذرانی قارچ در نواحی جنوب غربی و انتقال کنیدیومها توسط باد به سمت شمال و شرق آمریکا

1. Beta

است (۲۰). کلیستوتسیوم‌های *E.betae*[2] بطور معمول در شرایط طبیعی تولید می شوند ولی نقش آنها در چرخه زندگی قارچ بخوبی مشخص نیست. آزمایشهای انجام شده توسط دیدینا وسعد ومیناسیان در ترغیب آسکوسپورهای *E.betae* به جوانه زنی ناکام بوده است (۱۶). مملوک در آزمایش خود موفق شد که میزان اندکی(۰/۰۰۰۵) از آسکوسپورها را وادار به جوانه زنی کند وبه این ترتیب ثابت کرد که جوانه زنی آسکوسپورها بصورت بالقوه امکان پذیر است (۱۵). مملوک و ولتزین درآزمایشهای خود توانستند جوانه زنی آسکوسپورها را اثبات کنند اما در مورد بیماری زایی آسکوسپورها نتیجه منفی بود (۱۷). در مورد سایر سفیدکهای پودری نتایج در مورد سفیدک پودری جو (۱۴)، سفیدک پودری مو (۱۹) و در موردگیاه *Arctium lappa*L. و قارچ *Erysiphe cichoracearum* DC. (۸) نقش آسکوکارپها در بقا قارچ و بیماری‌زایی به‌اثبات‌رسیده‌است.امادر مورد*E. cichoracearum* و *Sphaerotheca fuliginea*(Schlecht ex Fr.)Poll. روی کدوئیان آزمایشها حاکی از آنست که آسکوسپورها نقشی در بیماری‌زایی ندارند (۵، ۶). با توجه به اهمیت بالقوه مرحله جنسی در بقا قارچ وهمچنین پیدایش تنوع ژنتیکی در نتیجه نوترکیبی جنسی وهمین طور نقش کنیدیومها در پیدایش وگسترش بیماری، این تحقیق با هدف بررسی نقش کلیستوتسیوم ها وهمچنین کنیدیوم ها در پایداری قارچ انجام شد.

مواد و روشها

جمع آوري نمونه

برگهای چغندر قند آلوده به سفیدک پودری در تاریخ ۱۵ آبان ۱۳۸۲ از یک مزرعه در اطراف کارخانه قند قزوین در زمان برداشت محصول جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها واجد کلیستوتسیوم‌های فراوان تیره و همچنین پوشش میسلیوم، کنیدیوم و کنیدیوموفور بودند. پس از انتقال نمونه ها به آزمایشگاه برگها بمدت ۴۸ ساعت در دمای معمولی اتاق قرار

2 . Cleistothecia

Archive of SID

www.SID.ir

گرفتند تا رطوبت خود را ازدست بدهند و سپس روی یک سطح صاف درفضای محیط طبیعی قرار داده شده وبرای حفاظت آنها در برابر باد یک توری فلزی روی آنها گذاشته شد. برای اطمینان از زنده بودن کنیدیومها روی برگهای سه بوته ۸ هفته ای چغندرقند از ژنوتیپ ۷۲۳۳ داخل گلدان مایه زنی شدند. همچنین کلیستوتسیومها از نظروجود آسکوسپورهای رسیده و تمایز یافته مورد بررسی قرار گرفتند.

برای بررسی جوانه زنی و بیماریزایی آسکوسپورها و کنیدیومها، بذور چغندر قند از ژنوتیپ حساس به بیماری ۷۲۳۳ در یک گلخانه عاری از سفیدک با فواصل دو هفته ای کاشته شدند تا همیشه بوته کافی و مناسب در دسترس باشد. گیاهان در شرایط معمول گلخانه با نور متناوب ۱۲ ساعت تاریکی و۱۲ ساعت روشنایی ودمای روزانه ۳۴-۲۷ وشبانه ۱۵-۱۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند

بررسي رهاشدن آسکوسپورها درشرایط محیط طبیعي(*In situ*)

در این آزمایش برگهای واجد کلیستوتسیوم که در زمان برداشت محصول از مزرعه جمع آوری واز نظر داشتن آسکوسپورهای رسیده اثبات شده بود روی یک سطح سیمانی صاف در شرایط طبیعی قرار داده شدندو روی آنها یک شبکه فلزی قرار داده شد. تعداد ۲۰ عدد لام تمیز که سطح آنها به وازلین آغشته شد روی برگها در فاصله ۰/۵ سانتیمتری آنها قرار داده شدند. در صورت نبودن بارندگی روز قبل از آزمایش سطح برگها توسط یک محلول پاش کاملاً مرطوب گردید تا امکان آزاد شدن آسکوسپورها بهتر فراهم شود. پس از گذشت ۲۴ ساعت این لامها برداشته شده و با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. این آزمایش بمدت ۶ ماه ازپانزده آذر تا پانزده خرداد سال بعد هر ماهه تکرار گردید.

بررسي رهاشدن آسکوسپورها درشرایط درون شیشه(*In vitro*)

در این آزمایش بر اساس روش جیلوکس و همکاران(۱۹۹۵) ابتدا قطعات برگ واجد کلیستوتسیوم که از نظر آسکوسپورهای رسیده و تمایز یافته در آنها اطمینان وجود داشت ودر شرایط محیط طبیعی نگهداری می شدند دیسکهایی به قطر ۲ سانتی متر بریده شده و در داخل آب مقطربه مدت یک ساعت قرار داده شدند تا شرایط برای باز شدن کلیستوتسیومها بهتر فراهم شود سپس این قطعات روی کاغذ صافی قرار گرفتند تا خشک شوند. پس از آنکه این قطعات مقداری آب خود را از دست دادند توسط چسب مایع به سطح داخلی تشتکهای به قطر۹ سانتی متری تعداد ۴ قطعه از این قطعات برگی چسبانده شده و این سرپوشها روی قسمت زیرین که حاوی آب آگار ۲ درصد بود قرار داده شدند. تشتکها سپس با پارافیلم مسدود شدند ودرانکوباتور دمای ۱ ± ۲۵ ^{o}C ونور متناوب ۱۲ ساعت تاریکی و۱۲ ساعت روشنایی قرار گرفتنند. هر بار از سه تشتک در این آزمایش استفاده شد.همچنین هربار قطعاتی از برگهای واجد کلیستوتسیوم که در شرایط 4^{o} C در یخچال نگهداری می شدند در کنار این برگها استفاده شد. بعد ازگذشت ۷۲ ساعت قطعات منجمد شده آب آگار در زیر این قطعات توسط اسکالپل بریده شده وپس از انتقال روی لام توسط لاکتو فنل کاتن بلو رنگ آمیزی و از نظر وجود آسکوسپورهای رها شده با بزرگنمایی ۱۰۰ برابر میکروسکوپ نوری بررسی گردیدند. این آزمایش از ۱۵ آذر تا ۱۵ خرداد سال بعد هر ماهه تکرار گردید.

بررسي جوانه‌زني و بیماریزایي آسکوسپورها روي برگ چغندر قند

در این آزمایش پس از خیس کردن برگهای نگهداری شده تحت شرایط فوق‌الذکر در آب مقطر به مدت یک ساعت کلیستوتسیومها از روی برگها داخل الک ۱۸۰ مش شسته شدند. پس از جمع آوری این کلیستوتسیومها ابتدا روی یک قطعه کاغذ صافی قرار داده شدند تا مقداری رطوبت خود را از دست بدهند. سپس تعداد تقریبی یکصد عدد کلیستوتسیوم در هر مورد روی یک لام تمیز قرار داده و توسط یک لام دیگر روی آن فشار داده و تا کلیستوتسیومها بشکنند. وجود آسکوسپورهای سالم در زیر میکروسکوپ بررسی گردید. روی برگهای کامل یک بوته چغندرقند از ژنوتیپ ۷۲۳۳ کاشته شده در گلدان توسط چوب پنبه سوراخ کن ۸ میلی‌متری طرح دوایری ایجاد شدو توسط یک قلم موی تمیز اسپورها از روی لام بر روی هریک از دوایر مالیده شدند و روی گلدانها با طلق سلوفان پوشانده شده و در شرایط نور متناوب و دمای روزانه ۳۴-۲۷ وشبانه ۱۵-۱۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. پس از گذشت ۴۸ ساعت این دوایر توسط چوب پنبه سوراخ کن بریده شدند و طبق روش

Archive of SID

www.SID.ir

اسکیپ وزامبرسکی رنگ بری و رنگ آمیزی شدند(۲۲). در این روش ابتدا داخل سه عدد شیشه ساعت ۱۰ میلی لیتر مخلوط اسید استیک گلاسیال و اتانول خالص به نسبت ۲:۱ ریخته شد ودر هر شیشه ساعت تعداد سه قطعه دایره ای از برگها که قبلا آسکوسپورها روی آنها مالیده شده بودند قرار داده شدند. هریک از شیشه ساعتها داخل یک تشتک و تشتکها داخل یک نایلون قرار داده شدند تا امکان تبخیر کمتر شود.بعد از ۴۸ ساعت قطعات برگ که رنگ خود را از دست داده بودند داخل لاکتو فنل قرارداده شدند.بعد از گذشت حداقل یک ساعت این قطعات روی لام قرار داده شدند و روی آنها یک قطره لاکتوفوشین ریخته شد (برای تهیه لاکتوفوشین ۰/۱ گرم فوشین اسیدی در ۱۰۰ میلی لیتر اسید لاکتیک بدون آب حل شدو محلول مورد استفاده قرار گرفت). لامها بعد از قراردادن لامل در زیر میکروسکوپ از نظر جوانه زنی بررسی گردیدند.تعدادی از قطعات برگی که روی آنها آسکوسپورها مایه زنی شده بودند بعد از یک هفته برای بررسی امکان بیماری زایی آسکوسپورها آزمایش شدند. این آزمایش از ۱۵ آذر تا ۱۵ خرداد سال بعد هر ماهه تکرار گردید.

بررسي جوانه‌زني آسکوسپورها در شرایط درون شیشه (*In vitro*)

براساس روش مملوک (۱۹۷۰) ابتدا یک محلول حاوی ترکیبات زیر تهیه گردید:

کربنات کلسیم ($CaCO_3$) ۰/۱گرم، کربنات سدیم (Na_2CO_3) ۰/۱گرم، ساکاروز۲ گرم، در صد میلی لیترآب مقطراستریل. پس از تهیه محلول فوق ابتدا یک قطره روی یک لام تمیز قرار داده شد و سپس کلیستوتسیومهای نگهداری شده در شرایط طبیعی درهر مورد حداقل ۳۰ کلیستوتسیوم داخل محلول قرار داده شد و پس ازقرار دادن لامل دردمای ۱ ± ۲۵°C و شرایط نوری متناوب نگهداری شدند. پس از ۲۴ ساعت این آسکوسپورها با فشار شکسته شدند تا آسکوسپورها آزاد شوندو سپس بمدت ۲۴ ساعت دیگر درهمین شرایط نگهداری وسپس درزیر میکروسکوپ نوری ازنظر جوانه زنی بررسی شدند. درهرمورد از۳۰ عدد لام که هریک حاوی حداقل ۳۰ عدد کلیستوتسیوم بود استفاده شد.

تعیین درصد جوانه زني کنیدیومها در شرایط درون شیشه (*In vitro*) وگلخانه اي (*In vivo*)

دراین آزمایش کنیدیومهای سطح برگها در دو حالت آزمایش شدند.درحالت اول کنیدیومهای تازه از روی برگها روی سطح شیشه لام تکانیده شدند این لامها در یک شیشه ساعت داخل یک تشتک قرار داده شد.در داخل هر تشتک مقدار ده میلی لیتر آب مقطر ریخته شد و تشتکها در شرایط نوری دائم و دمای ۱ ± ۲۵ °C قرار داده شدند.بعد از ۲۴ ساعت لامها خارج ودر زیر میکروسکوپ نسبت کنیدیومهای جوانه زده محاسبه شد. حداقل ۴۰۰ کنیدیوم شمارش گردید واز سه عدد لام بعنوان سه تکرار استفاده شد. ملاک جوانه زدن کنیدیومها طول لوله تندشی حداقل به اندازه عرض کنیدیوم بود. این آزمایش بعد از گذشت دو وچهار هفته از سن کنیدیومها تکرار شد. درحالت دوم کنیدیومها روی گیاهان ۸ هفته ای تکانیده شدند وپس از پوشاندن گلدانها توسط طلق سلوفان در شرایط نوری دائم و دمای معمول گلخانه قرار داده شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت دیسکهای برگی با قطر۸ میلی متر توسط چوب پنبه سوراخ کن بریده شده و بر اساس روش اسکیپ وزامبرسکی رنگ بری ورنگ آمیزی شدند وسپس در زیر میکروسکوپ درصد کنیدیومهای جوانه زده محاسبه شد. این آزمایش بعد از گذشت ۲ و۴ هفته از سن کنیدیومها تکرار گردید.

بررسي دوام بیمارزایي کنیدیومها در شرایط گلخانه‌اي (*In vivo*)

دراین آزمایش کنیدیومها روی برگهایی که در زمان برداشت از مزرعه جمع آوری شدند ابتدا روی بوته های ۸ هفته ای چغندرقند مایه زنی شدندتا از بیماری زایی آنها اطمینان حاصل شود و سپس این برگها در شرایط حفاظت شده در محیط طبیعی قرار گرفتند.هر ماه تعدادی از برگها به صورت پودر درآمده و و روی سه بوته ۶ تا ۸ هفته ای چغندر که از قبل داخل گلدان کاشته شده بودند مایه زنی شد. بوته شاهد بدون مایه زنی در کنار سایر گلدانها قرار گرفت. روی هر گلدان توسط طلق سلوفان پوشانده شده گلدانها در شرایط معمول گلخانه با نور متناوب ۱۲ ساعت تاریکی و۱۲ ساعت روشنایی ودمای روزانه ۳۴-۲۷ وشبانه ۱۵-۱۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند.این

Archive of SID

www.SID.ir

آزمایش هر ماهه از زمان برداشت تا خرداد سال بعد تکرار وظهور یا عدم ظهور بیماری ثبت گردید.

بررسي پيدايش اولين علايم بيماري درشرايط طبيعي(*In situ*)

در این آزمایش به منظور آگاهی از چگونگی پیدایش اولین علایم بیماری، بذور چغندر قند از رقم ۷۲۳۳ حساس به بیماری در تاریخ پانزدهم فروردین ۱۳۸۳ در یک کرت آزمایشی در محوطه دانشکده کشاورزی کرج کاشته شدند. همچنین از همین بذور در تاریخ پانزدهم اردیبهشت در مزرعه دانشکده کشاورزی کشت گردید. در تاریخ اول اردیبهشت دستگاه اسپورگیراز نوع Burkard,England پس از تعبیه نوار وچسب مخصوص در کنار کرت آزمایشی در محوطه دانشکده کشاورزی مستقر شد. همچنین برگهای واجد کلیستوتسیوم در اطراف محل استقرار دستگاه اسپورگیر قرار داده شد. نوار مخصوص در سیستم اسپورگیر بصورت هفتگی برداشته شده وبا بزرگنمایی۱۰۰ برابر میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت وکنیدیومهای شکار شده شمارش گردید. چغندرهای کاشته شده در مزرعه دانشکده بطور مداوم مورد بازدید وپیدایش اولین علایم بیماری ثبت گردید.

نتایج وبحث

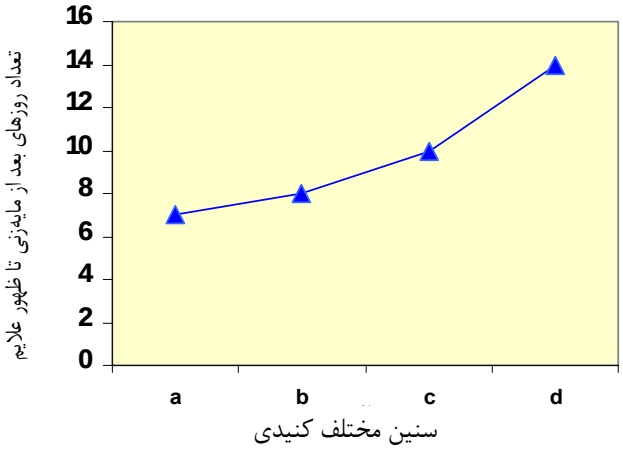
نتایج حاصل از رهاسازی آسکوسپورها در شرایط طبیعی حاکی از آن بود که اولین آزاد سازی این اسپورها در پانزدهم اسفند ماه چهار ماه بعد از برداشت برگها روی لامهای آغشته به وازلین ثبت گردید.در شرایطی که آزمایش رها سازی آسکوسپورها در درون تشتک انجام شد در هیچیک از دفعات آزمایش، رها شدن آسکوسپورها اتفاق نیفتاد. کوک وویلر (۱۹۶۷) در مورد گیاه *A. lappa* و قارچ*E.cichoracearum* مشاهده کردند که تناوبهای خشکی در اوایل ژانویه ومارس (دی واسفند) وبدنبال آن بارندگی مکرر در نیمه ژانویه تا نیمه مارس به باز شدن کلیستوتسیومها برای رها سازی آسکوسپورها کمک می‌کند. این تناوبهای خشکی و رطوبت ممکن است دیواره کلیستوتسیوم‌ها را ضعیف کند وباعث رها سازی آسکوسپورهای رسیده شود. همچنین تحقیقات در مورد *Uncinula necator*(Schw.)Burr. نشان داده است که رها سازی آسکوسپورها بلافاصله بعد از حداقل ۲/۵ میلی متر بارندگی در نیویورک اتفاق می افتد (۱۹). در تحقیقات مملوک و ولتزین (۱۹۷۳a) گفته شده که رها شدن فعال آسکوسپورها در *E.betae* تنها از مواد تازه قارچی امکان پذیر است اما در این تحقیق رها شدن آسکوسپورها چهار ماه بعد از نگهداری کلیستوتسیومها ودر پانزدهم اسفند ماه اتفاق افتاد ودر زمانهای قبل وبعد این رها سازی مشاهده نشد. در مورد جوانه زنی آسکوسپورها روی دیسکهای برگی تنها در چهار مورد از آنها اتفاق افتاد که از این تعداد دو ماه بعد از برداشت برگها دو عدد ودر ماههای سوم وچهارم در هر مورد یک آسکوسپور جوانه زده مشاهده شد، همچنین زمانیکه بعد از هشت روز دیسکهای واجد آسکوسپور آزمایش شدند در هیچ موردی آثار توسعه میسلیوم و بیماریزایی آسکوسپورها مشاهده نشد. همچنین در آزمایش جوانه زنی آسکوسپورها در محیط غذایی مصنوعی هیچ موردی از جوانه زنی مشاهده نشد. در آزمایش مملوک (۱۹۷۰) ازتعداد تقریبی ده هزار آسکوسپور تنها در ۵ مورد جوانه زنی مشاهده شد و همچنین در تحقیقات مملوک و ولتزین (۱۹۷۳b) در آزمایشهای متعدد تنها هفت مورد جوانه زنی ثبت شد و آزمایشهای بیماریزایی حاکی از عدم قابلیت آسکوسپورها در بیماری زایی بود که نتایج بدست آمده در این تحقیق با نظر این محققین هماهنگی دارد. در تحقیقات جیلوکس و همکاران (۱۹۹۵) بر روی سفیدک پودری مو نگهداری برگهای واجد کلیستوتسیوم در شرایط رطوبتی متناوب ودمای ۵ درجه سانتیگراد بمدت ۱۱۰ روز برای رها شدن، جوانه زنی وبیماری زایی آسکوسپورها ضروری بوده است. اما در تحقیق حاضر نگهداری قطعات برگ چغندر قند واجد کلیستوتسیوم در دمای تقریبی ۴ درجه سانتیگراد تأثیری در این موارد نداشت.

در آزمایش بیماری زایی کنیدیومها، بعد از سه ماه از نگهداری برگهای حاوی کنیدیوم در شرایط طبیعی محیط وبعد از مایه زنی روی برگهای چغندر قند علایم بیماری روی برگها پدید آمد که این موضوع نشان دهنده بقاء نسبتاً طولانی کنیدیومها است اگرچه فاصله بین زمان مایه زنی تا ظهور علایم بیماری با افزایش سن کنیدیومها بیشتر شد (شکل۱). درآزمایش قابلیت جوانه زنی کنیدیومها که روی لام انجام شد درصد جوانه

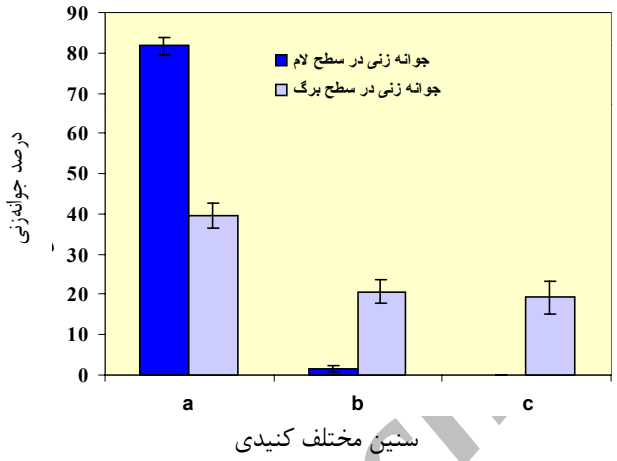
Archive of SID

www.SID.ir

زنی کنیدیومهای تازه بعد از ۲۴ ساعت ۸۱/۷ درصد محاسبه شد اما بعد از دو هفته این مقدار به ۱/۷ درصد و بعد از چهار هفته این مقدار به صفر رسید (شکل۲) اما درمورد جوانه زنی کنیدیومهای تازه روی برگها بعد از ۲۴ ساعت این مقدار در آزمایشهای متعدد هیچگاه از ۴۶ در صد فراتر نرفت. اما کنیدیومها بعد از گذشت دو هفته ۲۰/۷ درصد و بعد از چهارهفته از زمان برداشت ونگهداری برگها بطور متوسط ۱۹/۳ درصد جوانه زنی داشتند. بنظر می رسد که شرایط فیلوپلان درسطح برگ از سویی اجازه تندش سریع و کامل به کنیدیومها را نمی دهد اما در عین حال امکان جوانه زنی کنیدیومها را بعد از گذشت زمان طولانی به آنها می دهد. در سایر بیماریها هم چنین تغییراتی دیده شده است. در بحث ممانعت کنندگی ترکیبات در سطح برگ در *Candida albicans* کاربرد تری پپتید Arginine-Glycine-Aspartic acid (RGD) ، چسبیدن به میزبان و شناخت میزبان از ارگانیزم را بلوکه می کند(۷). در *Oidium licopersici* معلوم شده که تتراپپتید Arginine - Glycine - Aspartic acid - Serine (RGDS) ممانعت کننده قوی تر از RGD در جوانه زنی و همچنین منحرف کننده تشکیل اپرسوریوم در *Oidium licopersici* هستند(۱۳). در بحث تحریک جوانه زنی تأثیر مثبت و زیاد مواد مترشحه سلولهای برگی بلوط را بر روی جوانه زنی کنیدیوم قارچ *Microsphaera alphatoides* عامل بیماری سفیدک پودری بلوط گزارش شده است (۱۰). سطح برگها انواع علایم شیمیایی را از خود آزاد می سازند که شامل قندها، ترکیبات فنولیک و انواع مواد فرار است که قارچها به آنها عکس العمل نشان می دهند. یکی از این مواد اتیلن است که بعنوان یک سیگنال نسبت به قارچ عمل می کند. کنیدیومهای قارچ *Colletotrichum gloesporioides* و *C. musae* زمانیکه در برابر اتیلن قرار می گیرند جوانه زده و چندین اپرسوریوم تولید می کنند که این عمل بیشتر در مورد میوه هایی مثل موز و آووکادو انجام می شود(۲۳). بررسیهای مقدماتی در مورد سطوح مصنوعی مختلف نشان داد که سطوح هیدروفوبیک، سلولز و همچنین موم های سطح میزبان سبب ایجاد لوله تندشی در *Oidium licopersici* می شوند(۱۳).



شکل ۱- رابطه مایه‌زنی گیاهان توسط کنیدی‌ها در سنین مختلف با پیدایش اولین علایم بیماری a= کنیدیهای تازه، b = کنیدی‌های یک ماهه، c = کنیدیهای دو ماهه، d = کنیدیهای سه ماهه



شکل ۲- مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی کنیدی‌های سنین مختلف (±Standard Error) در سطح لام و در سطح برگ. a= کنیدیهای تازه، b = کنیدی‌های یک ماهه، c = کنیدیهای دو هفته‌ای، d = کنیدیهای چهار هفته‌ای

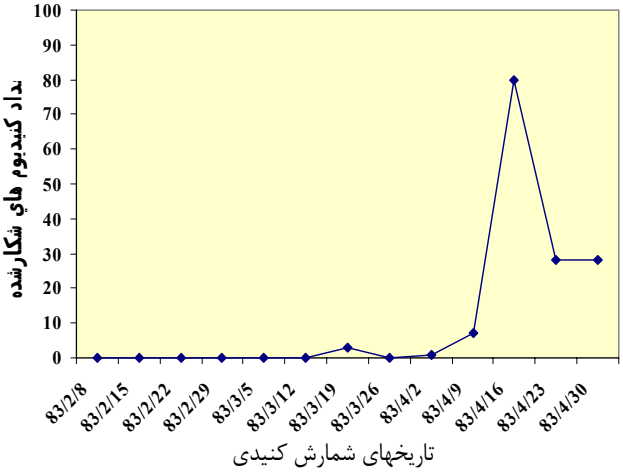
در آزمایشهای راپل وتوماسویچ (۱۹۷۷) میسلیوم وکنیدیوم *E.betae* روی برگهایی که به مدت ۶۰ روز روی برگهای نگهداری شده در زیر خاک ویا دریخچال نگهداری شدند قابلیت بیماری زایی داشتند اما بعد از ۹۰ روز این خاصیت درآنها موجود نبود. اما در تحقیقات آنها گفته شده که میسلیوم وکنیدیوم روی برگهایی که درشرایط طبیعی محیط نگهداری شدند خاصیت بیماری زایی خود را ازدست دادند. اما در آزمایش

Archive of SID

www.SID.ir

حاضر کنیدیوم ومیسلیوم روی برگهای نگهداری شده در شرایط طبیعی تا سه ماه قابلیت بیماری زایی خود را حفظ کردند.

در مورد آزمایش بررسی پیدایش اولین علایم بیماری درشرایط طبیعی نتایج آن نشان داد که اولین کنیدیومها توسط دستگاه اسپور گیر در تاریخ سیزدهم خرداد شکار شد و اولین علایم بیماری بر روی چغندرهای کاشته شده بیست روز بعد ودر سوم تیرماه بود. تعداد کنیدیومهای شکار شده قبل از پیدایش علایم بیماری بسیار نادر بود اما بعد از ظهور علایم تعداد این کنیدیومها یکباره افزایش یافت که احتمالاً بدلیل گسترش علایم بیماری و توسعه کنیدیومها برروی برگها بود (شکل ۳). در آزمایش توسط دستگاه اسپورگیر هیچگاه آسکوسپور شکار نشد. نخستین علایم بیماری بر روی گیاهان در مزرعه در تاریخ ۲۳ تیرماه ودر شرایطی پدید آمد که هیچگونه ماده تلقیح از سال قبل در مزرعه وجود نداشت وهمچنین سابقه‌ای از کشت چغندر در سالهای پیش نبود.



شکل ۳- تعداد کنیدیهای شکار شده در زمانهای مختلف

با توجه به مجموعه اطلاعات حاضر وهمچنین زمان ظهور بیماری که معمولاً در تیرماه اتفاق می افتد(۲) کلیستوتسیومها نمی توانند نقشی در پایداری قارچ داشته باشند ودرمورد کنیدیومها حداکثر قابلیت بیماریزایی آنها سه ماه بعد از برداشت بود که باز هم با زمان ظهور بیماری حدود پنج ماه فاصله دارد. با توجه به اینکه بیماری هر ساله وبا شدت کم وبیش یکسان در تمام مناطق چغندر کاری کشور دیده می شود(۱) این سؤال همچنان باقیست که چگونه قارچ می تواند از سالی تا سال دیگر دوام بیاورد. علفهای هرز جنس بتا که تا بحال از ایران گزارش شده اند چغندر وحشی *B.vulgaris* ssp.*maritime* (L.) Arcang (syn:*B.maritima*L.) و *Beta lomatogona* Fisch. et Mey هستند. *B.maritima* از مناطق گرمسیر شامل بلوچستان، خوزستان و جزایر خلیج فارس (۳) و *B.lomatogona* از مناطق محدودی در کوهستانهای بین آذربایجان و گیلان گزارش شده است(۴) که با توجه به وجود سالیانه وفراگیر بیماری در سراسر مناطق چغندر کاری وجود این علفهای هرز به تنهایی نمی تواند بقای قارچ را تضمین کند.همچنین در مناطقی از کشور نظیر استان اردبیل که چغندر بذری بصورت دوساله کشت می شود قارچ می تواند روی این چغندرها زمستان گذرانی کند. لکن چگونگی بقای قارچ در سایر نقاط و استانهای کشور همچنان بی پاسخ باقی می ماند.اما قویترین فرضیه ای که وجود دارد حضور کانونهای دائمی بیماری در مناطق گرمسیر و انتقال کنیدیومهای هوازاد از این کانونها به سایر منا طق است. درکشور ما چغندر قند در دو زمان کاشته می شود.یکی بصورت بهاره که در این حالت چغندر قند در ماههای اسفند وفروردین کاشته شده ودر آبانماه برداشت می شود که در کلیه مناطق سردسیر ومعتدل روال کشت این گونه است.در حالت دوم که در شمال خوزستان و منطقه دزفول رایج است چغندر قند در مهرماه کاشته شده و در اردیبهشت ماه برداشت می شود.در این مناطق علفهای هرز وحشی *B.maritima* به فراوانی در داخل وحاشیه مزارع چغندر قند می رویند. این علفها بدلیل شرایط خاص اقلیمی همیشه در سنین مختلف از گیاهچه تا گیاه کامل در طبیعت وجود دارند و به این ترتیب می توانند همواره قارچ را روی خود نگهدارند وآنرا از یک فصل زراعی به فصل دیگر منتقل کنند.در عین حال در زمان برداشت محصول در این مناطق، سفیدک پودری گسترش کاملی روی برگها دارد در حالیکه در مناطق سردسیر مجاور چغندرها در مرحله ۴ تا ۶ برگی هستند. کنیدیومهایی که روی این برگها هستند براحتی می توانند توسط باد جابجا شده و بوته‌های جوان چغندر را آلوده سازند. درتحقیق حاضر مشاهده شد که کنیدیومهایی که در شرایط طبیعی نگهداری می‌شدند

Archive of SID
www.SID.ir

تا سه ماه توانستند قابلیت بیماریزایی خود را حفظ کنند بنا براین جابجایی و معلق بودن کنیدیومها به مدت طولانی در حالیکه همچنان زنده و فعال باشند منطقی بنظر می رسد. باید در نظر داشت که منبع این کانونهای آلودگی در هریک از مناطق و کشورهای محل کشت چغندر قند می تواند باشد. در هر حال روند پیدایش بیماری و چگونگی همه گیری در نقاط مختلف کشور نیازمند تحقیقات بیشتری است که مطالعه حاضر دریچه ای را به سوی این پژوهشها می گشاید.

منابع مورد استفاده **REFERENCES**

۱. احمدی نژاد، ا.۱۳۵۲. مطالعاتی در مورد سفیدک پودری چغندرقند. مجله بیماریهای گیاهی، شماره۹ (۲) : ۲۵-۲۰.

۲. شیخ الاسلامی، م. و م. کولیوند.۱۳۷۷. بررسی تغییرات بیماری سفیدک پودری چغندر قند در مزرعه تحقیقاتی ماهیدشت (کرمانشاه). خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. ص ۱۲۳.

۳. قهرمان، ا. ۱۳۶۵. فلور ایران. جلد ۸. ص ۹۰۶.

۴. قهرمان، ا. ۱۳۷۸. فلور ایران. جلد ۱۹. ص ۲۲۶۶.

5. Bardin, M., P.C. Nicot, P.Normand, & J.M.Lemaire.1997.Virulance variation and DNA polymorphism in *Sphaerotheca fuliginea*,causal agent of powdery mildew of cucurbits.European journal of plant pathology, 103:545-554
6. Bardin, M., J. Carlier & C. Nicot. 1999.Genetic differentiation in the French population of *Erysiphe cichoracearum*, a causal agent of powdery mildew of cucurbits.Plant Pathology, 48:531-540
7. Bendel,C.M. & M.K.Hosteller. 1993.Distinct mechanism of epithelial adhesion for *Candida albicans* and *Candida tropicalis*.J.Clin.Invest.92,1840-1849
8. Cook, R.A.T. & B.E.J.Wheeler. 1967. Overwintering of cleistocarps, and infection by ascospores, of *Erysiphe cichoracearum* on *Arctium lappa*.Transactions of the British Mycological Society 50,625-630
9. Drandarevski,C.A.1978.Powdery Mildews of Beet Crops,in:The powdery mildews. D.M. Spencer, ed. Academic press,London.565pp.
10. Edwards, M.C. & P.G.Ayers. 1982.Effect of materials from oak leaf surfaces on germination of *Microsphaera alphitoides* conidia.Trans.Br.Mycol.Soc.78:123-128.
11. Francis,S.2002.Sugar beet powdery mildew (*Erysiphe betae*).Molecular Plant Pathology,3,3:119-124
12. Jailloux , F., T. Thind, & M. Clerjeau. 1995. Release, germination and pathogenicity of ascospores of *Uncinula necator* under controlled conditions.Can. J.Bot.76:777-781.
13. Jones,H., Z.M.Whipps & S.J. Gurr. 2001.The tomato powdery mildew fungus *Oidium neolycopersici*. Molecular Plant Pathology,2(6),303-309
14. Koltin,T., R.Kenneth. 1970.The role of the sexual stage in the over-summering of *Erysiphe graminis* DC.f.sp. *hordei* under semi-arid conditions.Ann.Appl. Biol.,65:263-268.
15. Mamluk,O.F.1970. Beobachtungen über die vereinzelte keimung die Ascosporen *Erysiphe betae* (Vanha) Weltzein. Phytopathologische Zeitschrift,67:87-88.
16. Mamluk,O.F. & H.C. Weltzien. 1973(a). Unterzuchungen über die hauptfruchtform des echten Rubenmehltaus, *Erysiphe betae*(Vanha)Weltzein.I.Die Fruchtkorperbildung im Verlauf der Pilzkultur.Phytopathologische Zeitschrift: 76:221-252.
17. Mamluk,O.F. & H.C. Weltzien. 1973(b).Unterzuchungen über die hauptfruchtform des echten Rubenmehltaus, *Erysiphe betae*(Vanha)Weltzein. I.Die Ascosporen.Phytopathologische Zeitschrift,78:42-56.
18. Mukhapadhyay A.N.1987. Handbook on diseases of sugarbeet,Vol.1.Florida:CRC Press.U.S.A.196pp.
19. Pearson,R.C. & D.M. Gadoury. 1987.Cleistothecia, the source of primary inoculum for grape powdery mildew in New York, Phytopathology, 77:1509-1514

Archive of SID

www.SID.ir

20. Ruppel,E.G., F.J. Hill, & E.Mumford.1975.Epidemiological observation on the sugar beet powdery mildew,Epiphytotic in western U.S.A.Plant Disease Reporter,59:283-285.
21. Ruppel,E.G. & B. G. Tomasovic. 1977. Epidemiological factors of sugar beet powdery mildew. Phytopathology, 67:619-621.
22. Skipp,R.A. & J.D.Samborski. 1974.The effect of the sr6 gene for host resistance on histological events during the development of stem rust in near-isogenic wheat lines.Canadian Journal of Botany, 252:1107-1115.
23.Walton, J. D. 1996.Host-selective toxins: agents of compatibility.Plant cell, 8:1723- 1733.
24.Weltzien, H. C. 1963.*Erysiphe betae*(Vanha)comb.nov.,the powdery mildew of beets. Phytopathologische Zeitschrift, 47:123-128.

Archive of SID

www.SID.ir