اتيولوژي بيماري پوسيدگي قارچي ريشه نهال‌هاي تاغ در نهالستان‌هاي استان يزد[1]

سيدكاظم صباغ شرف‌آبادي[2] سيدمحمود اخوت[3] قربانعلي حجارود[4] علي عليزاده علي‌آبادي[5]

چكيده

درختچه تاغ Saxual (*Haloxylon* spp.) يكي از مهمترين گياهان مقاوم به خشكي است كه براي تثبيت شن‌هاي روان در مناطق كويري از جمله استان يزد كاشته مي‌شود. در بررسي‌هاي انجام‌شده طي سال‌هاي ۷۹-۱۳۷۷، نمونه‌برداري از نهال‌هاي تاغ مبتلا به بيماري مرگ گياهچه از ابتداي فصل نشاء به‌طور دوهفته يك‌بار و كشت بافت‌هاي ريشه آلوده روي محيط‌هاي غذايي مختلف گونه‌هاي قارچي متفاوتي جداسازي، شناسايي و بيماريزايي آنها مورد مطالعه قرارگرفت. از مجموع ۱۸۹ جدايه قارچ به‌دست آمده، ۱۰۵ جدايه به شبه جنس *Fusarium* (*F.culmourum, F.solarni, F.oxysporum*)، ۱۵ جدايه به شبه جنس *Rhizoctonia*، ۳۰ جدايه به جنس *Pythium* و بقيه به تعداد كم به قارچ‌هاي ديگري از جمله *Alternaria alternata* تعلق داشت. به‌منظور آزمون بيماريزايي جدايه‌هاي قارچ‌ها، تحت شرايط گلخانه روش‌هاي تلقيح با مايه‌هاي يولاف، ماسه، بذر گندم، تماس مستقيم ميسليوم وسوسپانسيون اسپور قارچ‌ها بر روي گياهچه‌هاي تاغ انجام شد و پس از ۲۱ روز وضع آلودگي ريشه‌ها بررسي گرديد. در اين تحقيق بيماريزايي گونه‌هاي *Fusarium oxysporum, F.solani, Pythium aphanidermatum, Rhizoctonia fragariae* به اثبات رسيد و علائم بيماري ظاهر شد و قارچ‌هاي تلقيح‌شده مجددا جدا گرديد. از نظر فراواني و پراكنش قارچ‌هاي جداشده، گونه‌هاي جنس *Fusarium* داراي فراواني بيشتري بود (۵۵ درصد). در ميان جدايه‌هاي اين جنس گونه *F.solani* با ۸۱ جدايه بالاترين درصد (٤٢/٨ درصد) فراواني را داشت. شايان ذكر است كه بيماريزايي گونه‌هاي *F.oxysporum* , *R. fragariae* روي تاغ براي جهان و ايران جديد است. در اين بررسي تلاش براي ايجاد فرم جنسي *R.fragariae* به روش‌هاي معمولي ازجمله كاربرد قارچ‌كش در محيط‌هاي غذايي به‌ثمر نرسيد و در شرايط آزمايشگاه اين فرم مشاهده نشد، ولي گروه آناستوموزي آن متعلق به گروه AG-G بود.

۱- تاريخ دريافت: ۸۰/۸/۲۰، تاريخ تصويب نهايي: ۸۱/۵/۷

۲- دانشجوي سابق كارشناسي ارشد، دانشكده كشاورزي، دانشگاه تهران

۳- استاد دانشكده كشاورزي دانشگاه تهران **(E-mail: mokhovat@ut.ac.ir)**

٤- استاد دانشكده كشاورزي دانشگاه تهران

۵- عضو هيات علمي موسسه تحقيقات جنگل‌ها و مراتع

واژه‌هاي كليدي: تاغ، پوسيدگي ريشه نهال، قارچ، گونه‌هاي فوزاريوم، پي‌تيوم و ريزوكتونيا.

مقدمه

تاغ (*Haloxylon* spp.) يكي از مهمترين گياهان شناخته‌شده جهت تثبيت شن‌هاي روان وجلوگيري از فرسايش در ايران به‌شمار مي‌رود. گونه‌هاي آن سياه تاغ (*H. aphyllum* (Minkw)Irgin ، زردتاغ (*H.ammodenderron* Litw) و سفيد تاغ (*H.recurvum* Wall., *H.persicum* Sav., *H.salicornicum* Irgin) است. اين گياهان متعلق به خانواده *Chenopodiaceae* مي‌باشند. گونه غالب سياه تاغ است كه درکوير مركزي و استان يزد يافت مي‌شود (بي‌نام، ۱۳۵۵). آفات، بيماري‌ها و شرايط محيطي حاكم بر نهالستان‌هاي تاغ از عوامل عمده محدوديت توليد نهال است. از مهمترين مشكلات استان يزد در نهالستان‌هاي تاغ، بيماري مرگ گياهچه در اثر پوسيدگي ريشه است (صباغ، ۱۳۸۰). اين گياهان با شرايط خشك وكويري سازگاري پيدا كرده و مي‌توانند بدون باران مدت‌هاي طولاني دوام آورند. گياهان دائمي و يكساله‌اي نيز درمناطق كويري و استاني يزد مانند تاغ، قيچ، گز، درمنه، رمس، چرخه، بادام‌كوهي، اشنان، اسكنبيل، گون، خارشتر، پده، اسپند، آتريپلكس، سبد و اكالپيتوس وجود دارند كه با خشكي وگرماي تابستان‌هاي طولاني سازش يافته‌اند (ثابتي، ۱۳۷۳).

براساس منابع موجود، يكي از اولين گزارش‌هاي مربوط به وجود بيماري پوسيدگي ريشه تاغ كه گياهچه‌هاي آلوده داراي رشد بسيار ضعيف بوده و رنگ متمايل به زرد دارند و اغلب پژمرده شده و از بين مي‌روند، مربوط به تحقيق كاريوكاوا و سيدسكايا[۱] است كه از نهالستان‌هاي گونه سياه تاغ نواحي حاشيه درياي مازندران (آستاراخان و داغستان) ارائه شده است. اين محققان قارچ‌هاي *Fusarium solani*, *Camarosporium* sp., را از گياهچه‌هاي آلوده جداسازي كرده و اثر چند قارچكش و ماده بيولوژيك را براي كنترل اين بيماري بررسي كرده‌اند. تيمارهاي مورداستفاده براي كنترل قارچ *F.solani*، شامل تريكودرمين[۲] فوندوزول[۳] ، تترامتيل تيورام دي‌سولفيد[۴] و پلي‌مايسين[۵] و براي كنترل *Camarosporium* sp.، قارچ‌كش‌هاي زينب[۶]، فوندوزول و تريكودرمين بودند.در بين تيمارهاي فوق قارچكش فوندوزول به نسبت ۱/۵ در هزار بهترين اثر را در كنترل بيماري از خود نشان داد.

جيان[۷] (۱۹۸۸) قارچ *Uromyces sydwii* عامل زنگ برگ تاغ را از روي گونه *H.ammodenderron* جداسازي و معرفي مي‌كند.

حاجيان و جهانبخش (۱۳۷۴) نيز در مطالعه‌اي روي ميكوفلوربذر تاغ گونه‌هاي *Aspergillus niger*، *Aspergillus* sp. ،*Rhizopus* sp. ،*Camarosporium* sp., ،*Penicillium sp. Embelisia* sp., ،*Alternaria alternata, F.proliferatum, Chaetomium globosum, F. semitectum, Phoma herbicola , Trichothecium roseum, Cladosporum herbarum, Derchslera bicolor, Fusarium culmorum, Ascochyta* sp., *Alternaria alternata* را جداسازي و شناسايي كردند.

بوهرا و كوهلت[۸] (۱۹۹۷) اثر ترشحات اندام‌هاي مختلف گياهاني نظير تاغ، گز، آتريپلكس و درمنه را روي قارچ *Alternaria solani* (Ell.Ex Merat.) Sorauer بررسي كرده و اثرترشحات *H.recurvum* را روي اين قارچ بازدارنده دانستند. در خصوص علل مرگ گياهچه

[۱] -Karyukova & Sidskaya

[۲] - Trichodermin
[۳] - Fundozol
[۴] -Tetrametyltioram-disulfide
[۵] - Polymycin
[۶] -Zineb
[۷] -Jian
[۸] -Bohra & Kohlet

و پوسيدگي ريشه تاغ و خشكيدگي درختچه‌ها و درختان تاغ درايران قارچ‌هاي *Pythium aphanidermatum* (Edson)Fitzpartick و *Leveillula saxaouli* (Sorok.)Golov. گزارش شده است (ارشاد، ۱۹۹۵). دراين تحقيق، هدف شناسايي عوامل پوسيدگي ريشه و مرگ گياهچه‌هاي تاغ در نهالستان‌هاي يزد (شكل ۱) و نقش آنها در بيماريزايي است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوري نمونه‌ها

نمونه‌برداري‌ها از نهالستان‌هاي مهدي‌آباد رستاق، شمسي رستاق، شهرستان‌هاي صدوق و خاتم و ايستگاه مركز تحقيقات شاهديه از نهال‌هاي زرد، پژمرده، خشكيده و كم رشد در زمستان سال ۱۳۷۷ و ارديبهشت سال ۱۳۷۸ انجام گرفت و به آزمايشگاه منتقل شد.

جداسازي عوامل بيماريزا از ريشه‌هاي تاغ

بدين منظور نخست اندام‌هاي هوايي، از بوته‌ها جدا شده و ريشه‌ها در زير جريان آب جاري به‌طوركامل شستشو شدند تا خاك و بقاياي بافت‌هاي پوسيده جدا شود. سپس آب اضافي نمونه‌ها گرفته شد. در داخل اتاقك كشت استريل، از ناحيه حد فاصل بين بافت پوسيده و سالم قطعاتي به‌طور تقريبي دو سانتي‌متر با اسكالپل جدا شده و در محلول ضدعفوني‌كننده هيپوكلريت سديم نيم الي يك درصد محلول تجارتي (محلول تجارتي حاوي پنج درصد ماده موثر است) به‌مدت ۳۰ ثانيه تا دو دقيقه (بسته به نوع بافت) ضدعفوني شدند. پس ازسه بار شستشو با آب مقطر استريل و آبگيري روي كاغذ صافي استريل، از قسمت داخل بافت قطعاتي به‌طول پنج ميلي‌متر جدا شده و روي محيط كشت PDA اسيددار قرار داده شد (در هر تشتك پتري بسته به نوع بافت چهار تا پنج قطعه كشت مي‌شد). تشتك‌هاي پتري در انكوباتور در ۲۵ درجه سانتي‌گراد نگهداري شده و در صورت رشد قارچ عمل كشت مجدد (sub-culture) صورت گرفت. بدين‌شكل كه از كشت اوليه قطعاتي از كلني‌هاي متفاوت به محيط آب آگار ۲% و PDA و CMA (۱۷ گرم پودر آرد ذرت آگار در يك ليتر آب، از شركت Difco) منتقل و خالص‌سازي انجام شد.

به‌منظور جداسازي قارچ‌هايي كه به مواد ضدعفوني‌كننده حساسند مانند گونه‌هاي جنس *Rythium, Rhizoctonia* ، از روش شستشو در زير جريان آب جاري (Top Water) استفاده شد (Echert & Taso, 1962). بدين منظور نمونه‌هاي مشكوك آلوده به قارچ‌هاي فوق داخل قوطي‌هاي فيلم عكاسي كه از ته سوراخ‌هاي ريزي در آنها تعبيه شده بود، قرار داده شده و دهانه قوطي با پارچه توري بسته شد. قوطي‌ها به‌مدت ۳۰ تا ٤٥ دقيقه زير جريان آب جاري قرار داده شدند تا نمونه‌ها كاملا شسته شوند. سپس نمونه‌ها به اتاق كشت منتقل شده و با آب مقطر استريل سه بار شسته و با كاغذ صافي آبگيري شدند و روي محيط‌هاي غذايي سيب‌زميني، هويج و آگار (PCA)، محيط بذر شاهدانه و برگ گرامينه‌ها (صباغ، ۱۳۸۰) كشت داده شدند. بقيه مراحل مانند آنچه در فوق ذكر شد، انجام گرديد.

خالص‌سازي قارچ‌هاي مولد اسپور با تك اسپور كردن

قطعه‌اي از محيط كشت همراه با اسپور هر جدايه از قارچ در لوله آزمايش محتوي ۹ ميلي‌ليتر آب مقطر قرار داده و به هم زده شد. براي پايين‌آوردن غلظت و تراكم اسپور در لوله، رقيق‌سازي با نسبت‌هاي ۱/۱۰۰ و۱/۱۰۰۰ و الي آخر انجام گرفت. غلظت اسپور طوري تنظيم شد كه بعد از پخش‌كردن روي محيط كشت،

اسپورها به‌طور مجزا و با فاصله مشخصي از همديگر قرارگرفتند. به‌طوري‌كه اسپورهاي منفرد براحتي از روي محيط كشت برداشته شدند. پس از تهيه سوسپانسيون مناسب چند قطره از آن روي محيط كشت PDA درون تشتك پتري پخش شد. سپس تشتك‌هاي پتري داخل انكوباتور در ۲۵ درجه سانتي‌گراد به حالت شيب‌دار قرارگرفت و بعد از ۱۲ الي ۲۴ ساعت در زير بينوكلر، اسپورهاي جوانه‌زده در شرايط استريل به تشتك‌هاي پتري حاوي PDA منتقل گرديد. پس از رشد آن، دو لوله آزمايش محتوي محيط كشت شيب‌دار از آن تهيه و براي كارهاي بعدي در يخچال نگهداري شد (صباغ، ۱۳۸۰).

خالص‌سازي قارچ‌هايي كه توليد اسپور نمي‌كنند

در مورد قارچ‌هايي كه توليد اسپور نمي‌كردند يا به‌سختي اسپور توليد نمودند، از روش نوك ريسه‌كردن (Hyphal tip) استفاده شد. بدين منظور قرص‌هايي از كلني برداشته شده و به محيط آب - آگار دو درصد منتقل گرديد. بعد از رشد ريسه‌هاي مجزا دراطراف قرص، زير بينوكولر با بزرگنمايي ۴۰۰ برابر به كمك نوك سوزن قطعه‌اي از محيط همراه با هيف برداشته شده و به محيط كشت PDA منتقل شد.

مطالعه بيماريزايي قارچ‌هاي جدا شده

تهيه گياهچه براي آزمون بيماريزايي

تعيين درصد قوه ناميه بذور

در اين تحقيق براي تعيين درصد قوه ناميه بذور از روش كاغذ صافي مرطوب (Blotter) استفاده شد. به اين منظور ۴۰۰ عدد بذر به‌صورت تصادفي انتخاب و به دو گروه دويست‌تايي تقسيم شد و در داخل ظروف پلاستيكي به ابعاد ۴۰×۳۰×۲۰ ميلي‌متر حاوي كاغذ صافي مرطوب قرار داده شد. ظروف را به داخل انكوباتور با ۲۵ درجه سانتي‌گراد انتقال داده و روز دوم بذرهاي سالم جوانه‌زده شمارش شدند و مقداري آب به ظروف اضافه گرديد و شمارش در روزهاي سوم، پنجم و هفتم تكرار شد. بذرهاي جوانه‌زده و بذرهاي جوانه‌نزده كل شمارش و درصد قوه ناميه آنها تعيين شد:

$$\text{درصد قوه ناميه} = \frac{(\text{تعداد بذرهاي جوان نزده - كل بذور}) \times 100}{\text{كل بذور}}$$

بذور گونه سياه تاغ به‌علت كثرت استفاده در نهال‌كاري جهت آزمون بيماريزايي در اين تحقيق استفاده شد. براي اين منظور بذرها ابتدا با استفاده از الكل اتيليك ۷۵ درجه به‌مدت يك دقيقه يا هيپوكلريت سديم يك درصد تجارتي (محلول تجارتي پنج درصد ماده موثر داشت) به‌مدت ۳۰ دقيقه ضدعفوني سطحي شدند و سپس سه مرتبه به‌وسيله آب مقطر استريل شستشو شده و داخل گلدان‌هاي حاوي خاك استريل در گلخانه كشت داده شدند و بعداز ظهور گياهچه‌ها جهت آزمون‌هاي بيماريزايي مورد استفاده قرارگرفتند (صباغ، ۱۳۸۰).

تهيه مايه تلقيح و مايه‌زني

مايه آرد يولاف- ماسه

آرد يولاف به نسبت يك درصد با ماسه ريزبافت، مخلوط گرديد و در داخل هر شيشه ارلن ۱۲۵ ميلي‌ليتري حدود ۵۰ سانتي‌مترمكعب از اين مخلوط ريخته شد و مقدار ۱۰۰ ميلي‌ليتر آب به‌داخل شيشه‌ها اضافه و در نهايت دهانه ارلن‌ها با پنبه مسدود شد. شيشه‌هاي ارلن به‌مدت دوساعت در دو روز متوالي درفشار ۱/۵ اتمسفر و دماي ۱۲۱ درجه سانتي‌گراد اتوكلاو شدند. يك ديسك چهارميلي‌متري از كلني رشد كرده قارچ بر روي PDA به‌داخل هر ارلن اضافه گرديد. بعد از ۱۵ روز مايه (اينوكلوم) حاصله به نسبت دوگرم به هر كيلوگرم خاك پاستوريزه مخلوط شد. اين مقدار از مايه جمعيتي از قارچ با تراكم بين $۲*۱۰^{۴}$ الي $۴*۱۰^{۵}$ اسپور به ازاي هر گرم

خاك فراهم مي‌كند. زماني‌كه گياهچه‌ها ۳۰ روزه شدند، از خاك خارج شده و زير آب جاري شستشو شدند و در خاك گلدان حاوي مايه قارچ كاشته شدند. در مورد گلدان‌هاي شاهد، مايه اتوكلاو شده عاري از هر گونه آلودگي به نسبت دو گرم به هر كيلوگرم خاك پاستوريزه مخلوط گرديد و گياهچه‌ها در آن كشت شدند. از اين روش براي ارزيابي بيماريزايي گونه‌هاي جنس فوزاريوم استفاده شد (ارزنلو ، ۱۳۷۵).

مايه بذر گندم

بذور گندم به مقدار ۲۰۰گرم در داخل شيشه ارلن يك ليتري ريخته و به مقدار لازم آب اضافه شد و سپس در ۱۲۱ درجه‌سانتي‌گراد و فشار۱/۵ اتمسفر به‌مدت ٤٥ دقيقه در دو روز متوالي استريل گرديد. يك عدد قرص پنج‌ميلي‌متري از كلني قارچ بر روي محيط‌هاي مختلف به‌داخل شيشه ارلن منتقل شد و بعد از ۱۰ روز از بذور آلوده شده جهت آزمون بيماريزايي استفاده گرديد. بدين ترتيب كه در پاي هر بوته چند عدد بذر قرار داده شد. در مواردي براي آلوده‌سازي خاك گلدان بعد از پركردن ۳/٤ حجم گلدان با خاك پاستوريزه يك لايه از بذور آلوده‌شده در سطح خاك قرار داده شد و روي آن با يك لايه نازك از خاك پاستوريزه پوشانده شد. سپس بذرهاي ضدعفوني‌شده به تعداد ۱۵ تا ۲۰ عدد در سطح خاك قرار داده شدند و روي بذرها به‌وسيله خاك پاستوريزه دوباره پوشانيده شد. گلدان‌ها درگلخانه با دماي مناسب ۲ ±۲۵ درجه سانتي‌گراد و نور كافي قرار داده شده و روزانه آبياري گرديدند (Matsumoto, 1921). از اين روش براي ارزيابي بيماريزايي گونه‌هاي *Pythium* , *Fusarium* استفاده شد.

مايه سوسپانسيون اسپور

جدايه‌هاي تك‌اسپورشده قارچ بر روي محيط كشت PDA در شرايط ۱ ±۲۲ درجه سانتي‌گراد و بسته به نوع قارچ در نور متناوب ۱۲ ساعت روشنايي و ۱۲ ساعت تاريكي يا فلورسنت[1] كشت شد. بعد از ۱۵ روز اسپورهاي توليد شده از سطح محيط جمع‌آوري شده و از پارچه ململ چند لايه عبور داده شدند. با استفاده از لام اسپرشمار[2] (گلبول شمار) غلظت مناسب انتخاب و به پاي بوته‌هاي ۳۰ روزه به مقدار ۱۰ ميلي‌ليتر براي هر گلدان اضافه گرديد. در مورد گونه‌هاي جنس *Fusarium* سوسپانسيوني با غلظت $۱*۱۰^{٦}$ اسپور در ميلي‌ليتر آب تهيه شد (ارزنلو، ۱۳۷۵).

مايه ميسليوم قارچ

چند قرص از كلني قارچ رشدكرده بر روي آب آگار در پاي هر بوته نزديك ريشه قرار داده شد و روي آن با خاك پوشانده شد. از اين روش براي ارزيابي بيماريزايي *Pythium aphanidermatum* و *Rhizoctonia fragariae* استفاده شد. در موردگلدان‌هاي شاهد چند قرص آب آگار بدون قارچ مشابه تيمارهاي قارچي در پاي هر بوته به كاربرده شد.

ارزيابي نتايج مطالعات بيماريزايي

پس از مايه‌زني گياهان ۳۰ روزه با مايه تهيه‌شده، گلدان‌ها بر روي سكوي گلخانه چيده شده و دماي گلخانه ۲ ±۲۵ درجه سانتي‌گراد تنظيم و آبياري به‌صورت روزانه انجام شد. بوته‌هايي كه علائم آلودگي نشان مي‌دادند، از خاك بيرون آورده شده و بعد از شستشو و ضدعفوني سطحي بر روي محيط PDA كشت گرديدند و قارچ‌هاي رشدكرده از نظر خصوصيات با قارچ تلقيح شده مقايسه شدند. ريشه گياهچه‌هاي شاهد نيز پس از شستشو بر روي محيط PDA كشت گرديدند و از نظر آلودگي مورد مطالعه قرارگرفتند.

تحريك قارچ *P.aphanidermatum* جهت توليد اندام‌هاي زايشي

[1] -Fluorescente
[2] -Hemacitometer

براي توليد اندام‌هاي زايشي اين قارچ، كلني رشد كرده آن روي محيط‌هاي كشت PCA، CMA به داخل تشتك‌هاي پتري استريل حاوي آب مقطر منتقل شد و سپس برگ گراس (چمن) كه به‌مدت ۰/۵ ساعت جوشانده شده بود، در كنار آن قرار داده شده و در دماي ٢٤ درجه‌سانتي‌گراد گذاشته شد. در ضمن دماهاي متفاوت از ۲۰ تا ٤۰ درجه سانتي‌گراد جهت توليد اسپورانژيوم و اندام‌هاي زايشي اين قارچ نيز اعمال گرديد(صباغ، ۱۳۸۰).

تعيين گروه‌هاي آناستوموزي *R.fragariae*

به‌منظور تعيين گروه‌هاي آناستوموزي اين قارچ از دو روش اسلايد پوشيده از آگار و اسلايد تميز به‌وسيله الكل اتيليك ۹٦درجه استفاده شد كه در دو طرف لام قرص‌هاي قارچ با قرص‌هايي از استرين‌هاي استاندارد به‌فاصله ۲ سانتي‌متر قرار داده‌شده و در ۲۵ درجه سانتي‌گراد به‌مدت ۱۲ الي ٢٤ ساعت نگهداري شد. براي اين كار لام‌ها روي كاغذ استريل مرطوب داخل تشتك پتري استريل قرارگرفت. مشاهده جوش‌خوردگي ميسليوم‌ها در زير ميكروسكپ با يك قطره ماده رنگي كاتن بلو-لاكتوفنل انجام شد.

روش‌هاي ايجاد فرم جنسي قارچ *R.fragariae*

براي اين كار از سه روش ۱- عصاره خاك (يك ليتر عصاره خاك استريل صاف شده به اضافه يك گرم KH2PO4، ۰/۱ گرم عصاره مخمر و ۲۰ گرم آگار (كاويان‌پور، ۱۳۷۷)؛ ۲-پوشاندن سطح محيط كشت PDA حاوي ۵ درصد عصاره مخمر كه قارچ روي آن كشت داده شده بود، به‌وسيله ماسه نرم اتوكلاو شده، روزانه ۳ بار تشتك‌ها آبياري شد و دماي انكوباتور ۲۸ درجه سانتي‌گراد تنظيم گرديد (صباغ، ۱۳۸۰)؛ و ۳-تحريك با قارچ‌كش مانكوزب ۷ درصدكه قرص‌هاي كاغذ صافي به قطر ۵ ميلي‌متر با قارچ‌كش آغشته و به فاصله ۲ سانتي‌متر با كلني سه روزه قارچ بر روي PDA روي آب آگار ۲ درصد قرار داده‌شده و تشتك‌ها به‌داخل انكوباتور با دماي ۱±۲۰ درجه سانتي‌گراد گذاشته شد.

نتايج

شرح گونه‌ها و مطالعات بيماريزايي قارچ‌هاي جداشده

مشخصات مورفولوژيكي گونه

*Pythium aphanidermatum (*Edson)Fitz*p*

شكل كلني روي محيط كشت PDA به‌صورت يكنواخت وكاملا به رنگ سفيد و از پشت تشتك پتري سفيد متمايل به خاكستري كمرنگ مشاهده گرديد. رشد ميسليوم روي محيط كشت CMA منسجم و كتاني و داراي ميسليوم‌هاي هوايي كمتر و فاقد الگوي خاص رشدي بود. قطر هيف‌ها به‌طور متوسط ۱۰-۹ ميكرومتر بوده و اسپورانژيوم[۱] مشخصه اين جنس شامل شاخه‌هاي هيفي متورم با طول متفاوت و داراي ابعاد متوسط ۱۱*۲۰ ميكرومتر بود (شكل ۲).

آنتريديوم[۲] اغلب به‌صورت بين سلولي[۳] و صاف و در مواردي به‌صورت انتهايي[٤] و به شكل كيسه‌هاي پهن و داراي االگونيوم[۵] به‌صورت انتهايي با ديواره صاف و داراي ابعاد ٢٤*٢٢ ميكرومتر و به هر االگونيوم يك تا دو آنتريدي به صورت مونوكلاين[٦] يا ديكلاين[۷] چسبيده است (شكل ۳).

االسپور داراي حالت اپلوروتيك[۸] بوده و بين االسپور و االگن فاصله وجود دارد. زئوسپور در ۳۰-۲۵ درجه سانتي‌گراد تشكيل و زئوسپورهاي كيستي در ٤ درجه سانتي‌گراد در يخچال توليد شدند.

۱ -Sporangium
۲ -Anteridium
۳ - Intercalary
٤ - Terminal
۵ - Oogonium
٦ -Monoclinous
۷ - Diclinous
۸ - Apeorotic

دماي متوسط و بهينه براي رشد قارچ ۳۵-۳۰ درجه سانتي‌گراد بود و رشد روزانه روي محيط كشت PCA در ۲۵ درجه سانتي‌گراد به‌طور متوسط بيشتر از سه سانتي‌متر تعيين شد (Van Der Plastes, Niterink, 1981) . اين قارچ بعد از جوانه‌زدن بذر و قبل از خروج از خاك سبب مرگ گياهچه‌ها شد، همچنين ريشه‌ها پوسيده و قهوه‌اي شده ودر مواردي نوك ريشه‌هاي فرعي سياه گرديد.

شرح و بررسي بيماريزايي گونه‌هاي جنس *Fusarium*

شرح گونه *Fusarium oxysporum* Schlecht

مورفولژي كلني

كلني قارچ بر روي PDA در شرايط نور متناوب سفيدرنگ است كه بتدريج با مسن‌شدن به رنگ ارغواني مي‌گرايد. ريسه‌هاي هوايي انبوه و متراكم بوده و بسرعت رشد مي‌كنند. متوسط رشدكلني در ۲۵ درجه سانتي‌گراد بعد از چهار روز ۵-٤/۵ سانتي‌متر و بعد از هفت روز به‌طور متوسط هشت سانتي‌متر بود.

ويژگي‌هاي كنيدي

ماكروكنيدي: ماكروكنيدي‌ها اغلب بر روي محيط كشت برگ ميخك آگار (CLA)، SNA كه محيط مصنوعي است، به مقدار كم تشكيل و بر روي PDA بندرت ايجاد شدند. در مواردي براي گرفتن ماكروكنيدي، از ساقه و برگ استريل‌شده يونجه استفاده گرديد. ماكروكنيدي‌ها داراي ۵-۲ بند (اغلب سه بندي) بوده و ضخامت ديواره‌ها و بندها نازك و ظريف است. حالت پاشنه‌اي ضعيف (Foot shape) در سلول‌هاي پايه ديده شد. ماكروكنيدي‌ها به ابعاد ۵/۵*۳/۵-۵۰*۲٦/۵ ميكرومتر بوده و بر روي كنيديوفورهاي منوفياليد تشكيل مي‌شوند (شكل ٤). براي توليد ماكروكنيدي‌ها از نور nuv براي تحريك قارچ به‌صورت دوره‌اي استفاده شد.

ميكروكنيدي: ميكروكنيدي‌هاي فراوان در تمامي محيط‌هاي كشت مورد استفاده تشكيل شد. ميكروكنيدي‌ها اغلب تك‌سلولي و تخم‌مرغي تا لوبيايي‌شكل به ابعاد ٤-۱/۵*۹-۳/۵ ميكرومتر هستند كه فقط روي سرهاي دروغين (False-Heads) تشكيل شدند (شكل ۵).

كنيديوفورها: شاخه‌هاي كنيديوفور منوفيالايد، بدون انشعاب، منوفيالايدهاي كوتاه توليد ميكروكنيدي نموده و در مقايسه با *F.solani* داراي كنيديوفورهاي كوتاهتري مي‌باشند. طول فيالايدها ۱٤-۷/۵ ميكرومتر بود.

كلاميدوسپور

كلاميدوسپورها بر روي PDA و ساير محيط‌ها بعد از دو هفته به‌صورت پراكنده تشكيل شد. آرايش كلاميدوسپورها به‌صورت منفرد يا زوج بر روي ريسه و قطر آنها ۱۲/۵-۵/۵ ميكرومتر بود.

شرح گونه *Fusarium solani* (Mart.).Sacc .

مورفولژي كلني

كلني اين قارچ بر روي PDA در ۲۵ درجه سانتي‌گراد با نور متناوب سفيدكثيف تا متمايل به خاكستري تا بژ (نخودي) بوده و توليد ميسليوم‌هاي هوايي غيرمتراكم مي‌كند. اسپوردوكيوم‌ها پس از توليد ماكروكنيدي فراوان درسطح محيط به‌صورت نقطه‌اي ظاهر مي‌شوند (شكل ٦). متوسط رشدقارچ در ۲۵ درجه سانتي‌گراد بعد از چهار و هفت روز به ترتيب ۳/۵ و ۷/۵ سانتي‌متر بود.

ويژگي‌هاي كنيدي

ميكروكنيدي: ميكروكنيدي‌ها به اشكال بيضوي تا تقريبا تخم‌مرغي، اغلب تك‌سلولي دربرخي موارد دوسلولي هستند و بر روي PDA، CLA و SNA بعد از سه الي چهار روز تشكيل مي‌شوند. ميكروكنيدي‌هاي تك‌سلولي به ابعاد ٤-۲*۱۷-۵ ميكرومتر و دوسلولي به ابعاد ٤-۲/۵*۲۰-۱۰ميكرومتر است. ميكروكنيدي‌ها به‌صورت

سرهاي دروغي روي كنيديوفورهاي جانبي ساده يا منشعب تشكيل مي‌شوند. طول ميكروكنيديوفورها در مقايسه با *F.oxysporum* طويل‌تر و كنيديوفورها به‌صورت منوفيالايد بودند.

ماكروكنيدي: ماكروكنيدي‌ها دوكي و به ابعاد ۶/۵-۴*۵۵/۵-۳۰ ميكرومتر هستند و سه تا شش ديواره عرضي دارند.

كلاميدوسپورها

كلاميدوسپورها به اشكال بيضوي تا كروي منفرد تا دوتايي در انتهاي هيف‌ها يا به‌صورت بين‌هيفي تشكيل مي‌شوند. قطر كلاميدوسپورها ۱۰-۶/۵ ميكرومتر بود.

شرح و بررسي بيماريزايي گونه‌هاي جنس *Rhizoctonia*

شرح و توصيف گونه *Rhizoctonia fragariae* Hussain & Mckeen

رنگ كلني در ابتدا كرم مايل به قهوه‌اي بود كه پس از دو تا سه هفته به رنگ قهوه‌اي روشن درآمد. سطح كلني در تعدادي جدايه‌ها داراي نقوشي به‌صورت دواير متحدالمركز (Zonation) بود. ميسليوم‌هاي قارچ هم در سطح محيط كشت و هم به‌صورت ميسليوم‌هاي هوايي رشد كرد. اسكلروت‌ها بندرت و در صورت تشكيل به مقدار بسيار كم بعد از گذشت چندماه تشكيل شدند.

قطر اسكلروت‌ها در اكثر موارد كمتر از ۱۰۰ ميكرومتر تعيين شد. اسكلروت‌ها به رنگ قهوه‌اي بوده و در سطح زيرين درب تشتك پتري تشكيل مي‌شدند. هيف‌هاي قارچ نخست به رنگ قهوه‌اي كم رنگ بود و سپس قهوه‌اي شد. انشعابات هيف‌ها هم به‌صورت زاويه حاده و هم‌زاويه قائمه بود. هيف‌ها در محل انشعاب كمي فرورفته شده و كمي بالاتر از محل فرورفتگي ديواره عرضي تشكيل گرديد. طول سلول‌هاي هيف در يكصد نمونه اندازه‌گيري‌شده ۱۹۸-۲۵ ميكرومتر تعيين شد.

سلول‌هاي مونيلوئيد به‌صورت زنجيره‌هاي ساده و منشعب تشكيل شدند. شكل آنها در اكثر موارد بشكه‌اي و در مواردي گرزي و بدون شكل مشخص بود. رنگ سلول‌هاي مونيلوئيد قهوه‌اي روشن و اندازه آنها ۴۲-۱۲*۱۴/۲-۷ ميكرومتر بود (شكل ۸).

رنگ‌آميزي هسته با رنگ‌هاي آكريدين اورنج، آنيلين بلو و سافرانين-او(به روش Kronland & Stanghellini, 1988) صورت گرفت و با استفاده از رنگ سافرانين-او هسته‌ها واضح‌تر و آسانتر از موارد استفاده از رنگ‌هاي ديگر مشاهده شد. تعداد هسته در سلول‌هاي هيف در اكثر موارد دو عدد و در موارد نادري سه عدد در هر سلول مشاهده شد. قطر هيف‌ها بين ۶/۸-۳/۵ ميكرومتر و ميانگين آنها ۵/۶ اندازه‌گيري شد. درجه حرارت بهينه رشدي براي جدايه‌هاي اين جنس ۲±۲۵ درجه سانتي‌گراد بود. در حرارت بهينه فوق، رشد قارچ (رشد شعاعي) بيش از ۱/۵ سانتي‌متر در روز بود.

جدايه‌هاي متعلق به اين جنس در آزمايش‌هاي آناستوموزي با جدايه‌هاي استاندارد، از گروه آناستوموزي AG-G تشخيص داده شد (شكل۹).

بحث و نتيجه‌گيري

دامنه ميزباني وشرايط مناسب براي گونه *Pythium aphanidernmatum*

قارچ فوق داراي دامنه ميزباني وسيعي و در شرايط رطوبت بالا و آب و هواي گرم و معتدل خسارت قابل توجهي به محصولات كشاورزي، گلخانه‌اي و نهالهاي موجود در نهالستان وارد مي‌كند. اين گونه در مقايسه با گونه‌هاي ديگر قارچي نظير فوزاريوم‌ها و رايزوكتونيا در دماي بالاتر موجب ايجاد خسارت مي‌گردد. درجه

حرارت اپتيمم براي ايجاد خسارت ۳۷-۲۵ درجه سانتي‌گراد است.

دماي ۳۵-۳۰ درجه سانتي‌گراد خاك براي ايجاد بيماري مرگ گياهچه توسط اين قارچ مطلوب‌تر است. در درجه حرارت‌هاي زير ۱۵ درجه خاك گياهچه‌ها از بيماري فرار مي‌كنند (Staghellini *et al.*,1983). اين قارچ سبب پوسيدگي بذر، مرگ گياهچه، سياه‌شدگي و قهوه‌اي شدن ريشه‌هاي تاغ شد.

مشخصات‌گونه *Fusarium oxysporum* با توصيفات ارائه‌شده توسط بوس (۱۹۷۱)، نلسون و همكاران (۱۹۸۳) مطابقت داشت.

وجوه اشتراك و افتراق

تنها گونه‌اي كه ممكن است با اين قارچ اشتباه شود، *F.solani* است. فياليدهاي *F.oxysporum* نسبت به *F.solani* كوتاهتر و ضخيم‌ترند. اين اختلاف را مي‌توان با مشاهده سرهاي دروغين در انتهاي فياليدها مشاهده كرد. ماكروكنيدي‌هاي *F.oxysporum* صورتي تا بنفش است، درحالي‌كه رنگ بيشتر كشت‌هاي *F.solani* كرم تا خاكستري متمايل به بژ و بندرت بنفش است.

بررسي بيماريزايي در شرايط گلخانه

پنج جدايه از اين قارچ با استفاده از دو روش مايه‌زني با سوسپانسيون اسپور و اينوكلوم آرد يولاف+ ماسه مورد مطالعه قرارگرفت. نتايج آزمايش نشان داد كه جدايه‌هاي اين قارچ بر روي گياهچه‌ها و بوته‌هاي دو ماهه بيماريزاست.

مشخصات گونه *F.solani* با توصيفات ذكرشده توسط بوس (۱۹۷۷) و نلسون و همكاران (۱۹۸۳) مطابقت داشت.

علائم بيماري در مزرعه

اين قارچ از گياهچه‌هاي تاغ در مراحل بعد از كاشت (سه هفته بعد) جداسازي شد. بوته‌ها داراي علائم پوسيدگي خشك در قسمت‌هاي ميانی و انتهايي ريشه و زردي و پژمردگي در اندام‌هاي هوايي بودند. اين گونه به همراه ديگر گونه‌ها در اكثر موارد جداسازي شد.

بررسي بيماريزايي در شرايط گلخانه

در مورد اين گونه مانند *F.oxysporum* عمل شد و جدايه‌هاي اين گونه بر روي گياهچه‌هاي ۳۰روزه تاغ بيماريزايي نشان دادند. علائم ايجاد شده بر روي ريشه‌هاي مايه‌زني‌شده توسط اين گونه نسبت به ساير گونه‌ها بسيار خفيف بود و علائم بيماري روي ريشه نسبت به ساير گونه‌ها بعد از مدت طولاني‌تري ظاهر شد.

اين گونه دامنه ميزباني وسيعي دارد. در هيچ‌كدام از منابع موجود اين گونه از تاغزارهاي ايران گزارش نشده و گزارش بيماريزايي اين گونه بر روي تاغ در ايران جديد است.

آناستوموز در ***R.fragariae***

ماتسوموتو[1] (۱۹۲۱) سه نوع اتصال و جوش‌خوردگي و يا به طور كلي سه نوع آناستوموز ريسه‌اي ممكن را در مكمل‌سازي جدايه‌هاي *Rhizoctonia fragariae* مشاهده كرد:

۱) اتصال و جفت‌شدگي كامل (Perfect fusion)

۲) اتصال و جفت‌شدگي ناقص (Imperfect fusion)

۳)اتصال به‌صورت تماس و برخورد (Contact)

در اتصال با جوش‌خوردگي كامل، ديواره سلولي و سيتوپلاسمي به‌طور كامل با هم جوش خورده، يكي مي‌شوند و سيتوپلاسم‌هاي مخلوط‌شده قابليت زنده ماندن را دارند. در اتصال و جوش‌خوردگي ناقص در محل سلول‌هاي جوش‌خورده پلاسموليز صورت مي‌گيرد و سلول‌ها

[1] -Matsumoto

مي‌ميرند. درجوش‌خوردگي به‌صورت تماس فقط ريسه‌ها با هم مماس مي‌گردند و ديواره سلول‌ها در محل برخورد ليز نمي‌شود. در جدايه‌هاي مربوط به گروه آناستوموزي مشخص هر سه حالت با درصدهاي مختلف ديده مي‌شود. براي اينكه يك جدايه در يك گروه آناستوموزي خاص قرار بگيرد، پنج مورد جوش‌خوردگي بايد در نظر گرفته شود (قوستا، ۱۳۷۵).

به‌منظور بررسي دقيق و اطمينان حاصل از نتيجه تست آناستوموزي و به‌دليل رفتار منظم انشعابات در رايزوكتونيا، كه جهت انشعابات همواره در جهت رشدي است و براي اطمينان از اينكه الحاق بين سلول‌هاي خود هيف اتفاق نيفتاده باشد، هيف‌ها تا محل مبدامورديررسي قرارگرفتند(Carling, 1996). با توجه به آزمايش‌هاي فوق گروه آناستوموزي جدايه‌هاي تاغ با استفاده از روش فوق AG-G تشخيص داده شد. گروه استاندارد AG-G متعلق به گونه *R.fragariae* است.

توليد فرم جنسي ***R.fragariae***

نتايج آزمايش نشان داد كه قارچ *R.fragariae* با هيچ‌كدام از روش‌هاي استفاده از عصاره خاك و تحريك با قارچ‌كش مانكوزب قادر به ايجاد فرم جنسي نيست و حتي با تكرار آزمايش‌هاي فوق و در مواردي با ايجاد تغييراتي در روش‌هاي ذكر شده نظير كم يا زياد كردن غلظت قارچ‌كش يا غني‌كردن محيط پايه، هيچ اندامي بارده جنسي مشاهده نشد (ارزنلو ۱۳۷۹، كانگاتارالينگام و كارسون، ۱۹۸۰)

قارچ *R.fragariae* در اغلب موارد گزارش شده از جهان سبب پوسيده شدن ريشه توت‌فرنگي مي‌شود و اپيدمي شديد آن از كشورهاي كانادا، آمريكا، آرژانتين و ايتاليا گزارش شده است (قوستا، ۱۳۷۵).

بيماري توليدشده توسط قارچ فوق عموما به‌عنوان پوسيدگي ريشه از نوع پوسيدگي سياه بوده و به‌عنوان مرگ زمستانه ريشه توت‌فرنگي شناخته شده است. اين قارچ به اندام‌هاي هوايي گياه كه در تماس نزديك با خاك يا با فاصله كمي از سطح خاك قرار گرفته باشند نيز حمله مي‌كند و موجب ايجاد خسارت مي‌شود.

علائم ايجادشده بر روي تاغ در نهالستان شامل پوسيدگي قسمت‌هاي مختلف ريشه و همچنين پيچيدگي طوقه و سياه‌شدن آن مي‌شود. قارچ فوق در اغلب ماه‌هاي سال از ريشه‌هاي پوسيده جدا گرديد. شايان ذكر است كه گياه تاغ به‌عنوان ميزبان جديدي (Matrix nova) براي اين قارچ معرفي مي‌شود. تاكنون قارچ *R.fragariae* از گياهان لوبيا، چغندر قند، باقلا، گوجه‌فرنگي، خربزه، توت‌فرنگي و آفتابگردان كه دچار مرگ گياهچه شده بودند، گزارش شده است.

گونه *R.fragariae* براي اولين بار از ايران توسط قوستا (۱۳۷۵) بر روي توت‌فرنگي به عنوان ميزبان آن معرفي شد.

تشكر و قدرداني

اين تحقيق با بهره‌گيري از اعتبارات پژوهشي دانشگاه تهران در دانشكده كشاورزي كرج و بخشي در ايستگاه تحقيقات جنگل‌ها و مراتع جهاد كشاورزي در يزد انجام شده است.

شكل ۱- علايم بيماري پوسيدگي ريشه و مرگ گياهچه در نهالستان‌ها

شکل ۲- اسپورانژیم در قارچ *P.aphanidermatum* (بزرگنمايي تقريبي ۹۸۰برابر، Original)

شكل ۳- *P.aphanidermatum* a و b : آنتريديوم c:االگونيوم d: االسپور
(بزرگنمايي تقريبي ۹۸۰ برابر، Original)

شكل ٤-ميكروكنيدوفور (سمت راست) و ماكروكنيدي (سمت چپ) در قارچ *Fusarium oxysporum*
(به اندازه تقريبي ۱۷۸ برابر، Original)

شكل۵-سرهاي دروغين (False heads) در Fusarium (به اندازه تقريبي ۱۷۸ برابر، Original)

شکل ٦-اسپوردوخيوم در *F.solani*

شکل۷ - اثبات بيماريزايي قارچ *F.solani* در شرايط گلخانه‌اي

شكل ٨- سلول‌هاي مونيلوئيد در قارچ *R. fragariae* (به اندازه تقريبي ٨٩٠ برابر، Original)

شكل ٩- تعيين گروه آناستوموزي *R.fragariae* با جدايه استاندارد AG-G

منابع

١- ارزنلو، مهدي. ١٣٧٩. اتيولوژي بيماري پوسيدگي ريشه چغندر قند در منطقه كرج. پايان‌نامه كارشناسي ارشد رشته بيماري شناسي گياهي، دانشكده كشاورزي دانشگاه تهران. ١٠٢ صفحه.
٢-بي‌نام، ١٣٥٥. گلها و گياهان مناطق خشك و نيمه خشك و كويري ايران، انتشارات موسسه تحقيقات جنگل‌ها و مراتع. نشريه فني، شماره ١٩، ٦٢٥ صفحه.
٣-ثابتي، حبيب‌الله، ١٣٧٣. جنگل‌ها، درختان و درختچه‌هاي ايران، انتشارات دانشگاه يزد، ٨١٠ صفحه.
٤-حاجيان، محمد و وحيد، جهانبخش، ١٣٧٤. بررسي ميكوفلور بذر تاغ، خلاصه مقالات دوازدهمين كنگره گياهپزشكي ايران. ٢٧٤ صفحه.
٥-صباغ، سيدكاظم، ١٣٨٠. اتيولوژي بيماري پوسيدگي ريشه تاغ. پايان‌نامه كارشناسي‌ارشد رشته بيماري‌شناسي گياهي، دانشكده كشاورزي دانشگاه تهران، ٧١ صفحه.

٦-قوستا، يوبرت، ١٣٧٥. تحقيق در زمينه رده‌بندي *Rhizoctonia* DeCandolle. پايان‌نامه كارشناسي ارشد، دانشكده كشاورزي دانشگاه تهران، ٩١ صفحه.

٧-كاويان‌پور، علي، ١٣٧٧. جداسازي و تشخيص قارچ‌هاي مولد پوسيدگي ريشه و مرگ گياهچه و نهال در خزانه‌هاي درختان جنگلي در خوزستان، پايان‌نامه كارشناسي ارشد بيماري‌شناسي گياهي، دانشگاه اهواز، ٩٠ صفحه.

8-Bohra, A. and D. Hohlet, 1997. Effect of extracts of some halophytes on the growth of *Alternaria solani*. Journal of Mycology and Plant Pathology. 27:235-240.

9-Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, England. 237 pp.

10-Booth, C; 1977. Fusarium laboratory guid to the identificantion of the major species. C.M.I. Ferry Lanes Kew, Surrwy, England. 58 pp.

11-Butler, E. E 1980. A method for long-time storage of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology. 70-820-821pp.

12-Carling, D.E., 1996. Grouping in *Rhizoctonia solani* by hyphal anastomosis reaction in: Sneh, B., S Jabaji-Hare, S.Neate and G. Dijst. *Rhizoctonia* species. Taxonomy, Molecular Biology, Pathology and Disease Control. Kluwer Academic Publishers. P. 37-(47).

13-Dhingra, O.D. and B.J. Singlar. 1994. Basic Plant Pathology Methods. 5th. CRC Press. Inc. 435 pp.

14-Eckert, J. W. and P.H. Taso., 1962. A selective antibiotic medium for isolation of *Phytophthora* and *Pythium* from plant roots. Phytopathology.52:771-777.

15-Ershad, D., 1995. Fungi of Iran. Plant Pests and Disease Research Institute, Department of Botany, Publication No. 10.

16-Jian, H. R., 1988. A Report of *Uromyces sydwii* Liu et Gao (Leaf rust) on *Haloxylon ammodenderon*, Scientia, Silvae-Sinicae. 24:3:376-378.

17-Kanngatharalingam, N. and M.L.Carson., 1980. Technique to induce sportulation in *Thanatephorus cucumeris*. Plant Disease. 72:146-148.

18-Karyukova, E. A. and L.T. Pe, Sidskaya., 1985. Features of protecting farm shelter-belts and stands from pests and disease. Lesno-Khozyaistve No. 10, 57-61.

19-Kronland, W. G. and M. Stanghellini., 1988. Clean slide technique for the observation of anastomosis and nulear condition of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology. 78,820-822.

20-Matsumoto, T., 1921. Studies in the physiological of the fungi. XII. Physiological specialization in *Rhizoctonia solani* Kuehn. Ann. Missouri Botan. Garden. Vol 8:1-62.

21-Nelson, P.E., T.A. Taussoun. And W.F.O. Marasas., 1983. *Fusarium* species: An Ilustralated manual for identification. The Pennsylvania State University Press, Uni. Park and London. 193 pp.

22-Stanghellini, M. E., L.J. Stowel, W.C. Kroland and P.V. Bretzel, 1983. Distribution of *Phythium aphanidermatum* in rhizoshere soil and factors affecting expression of the absolute potential . Phytop. 71:1463-1466.

23-Van Der Plaats. Niterink, A.J. 1981. Monographs of genus *Pythium*. Centraalbureau voor Schimmelcultures. Baarn. 241 pp.

Etiology of *Haloxylon* Root Rot in Nurseries of Yazd Province

S. K. Sabbagh Sharafabadi[1] S. M. Okhovvat[2] Gh. Hedjaroude[3]
A. Alizadeh Aliabadi[4]

Abstract

Saxuals *(Haloxylon* spp. *)* is one of the most important xerophytes and one of the best plant for sand stabilization in salty deserts. Insect pests, diseases and environmental factors restrict the reproduction and growth of saxual in nurseries of Yazd province, Iran. Surveys of 1998-2000 showed that damping off and root rot were the most destructive and prevalent diseases in saxual nurseries. In order to determine the causal agents of damping-off and root rot, several samples were taken from nurseries. Infected plants indicated symptoms on root and crown. Isolation were done by planting pieces of discolored root and crown tissues on PDA and WA media and 189 fungi isolates were identified belonging to following six species: F*usarium solani, F. oxysporum, F. culmorum, Pythium aphanidermatum, Alternaria alternata* and *Rhizoctonia fragariae*. From a total of six species, the pathogenicity of four fungi,i.e. *R. fragariae, F. solani, F. oxysporum, P. aphanidermatum* were observed in greenhouse. Symptoms of disease appeared on root system of saxual seedlings 21 days after inoculation. The pathogenic fungi were re-isolated from the infected seedlings. The sauxal plant is reported as a new host (Matrix nova) for these fungi: *R. fragariae, F. oxysporum., F. solani,* and *F. culmorum* (55%) with 105 isolates were found to have the greatest frequency and distribution among the pathogenic fungi studied.

Anastomoses groupe of *R. fragariae* was identified as AG-G. In this investigation, using fungicide on media to induce teleomorph production in *R. fragariae*, of the fungus was not produced.

Keywords: Saxual, *Haloxylon*, Root rot, Fungus, *Fusarium* spp.,*Pythium*, *Rhizoctonia*.

[1] ***-Former M.Sc. student, Faculty of Agriculture, University of Tehran***
[2] ***-Professor, Faculty of Agriculture, University of Tehran***
[3] ***-Professor, Faculty of Agriculture, University of Tehran***
[4] ***-Scientific Member, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran***