Archive of SID

بیماریهای گیاهی، جلد ۴۰، ۱۳۸۳

شناسایی و بررسی اهمیت آرایه‌های *Pythium* به عنوان عوامل پوسیدگی ریشه چغندرقند در استان خوزستان*

Identification and pathogenicity of *Pythium* species on sugar beet root rot in Khuzestan province

نازنین زمانی‌نور، واهه میناسیان، ضیاءالدین بنی‌هاشمی و رضا مستوفی‌زاده قلم‌فرسا**

گروه گیاهپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز و گروه گیاهپزشکی دانشگاه شیراز

دریافت ۸۲/۱۲/۱۰ پذیرش ۸۳/٤/۱۷

چکیده

به منظورشناسایی و بررسی اهمیت آرایه‌های *Pythium* به عنوان عوامل پوسیدگی ریشه چغندرقند در استان خوزستان از مزارع چغندرکاری مناطق مختلف شامل اهواز، اندیمشک، بهبهان، دزفول، شوشتر، شوش دانیال، صفی‌آباد، مزارع چغندرکاری کشت و صنعت شهید بهشتی وکشت و صنعت شهید رجایی در طی دو فصل زراعی از اسفند ماه۱۳۸۰ تا اردیبهشت ماه ۱۳۸۲ نمونه‌برداری به عمل آمد. گیاهان دارای علائم پوسیدگی جمع‌آوری شده، همراه با نمونه‌هایی از خاک مزارع مختلف به آزمایشگاه منتقل شد. جدایه‌های موجود درخاک به روش طعمه‌گذاری با برگ لیموشیرین جداسازی گشتند. از بافت‌های پوسیده ریشه چغندرقند نیز پس از شستشو با آب معمولی و ضدعفونی سطحی با الکل اتیلیک۷۵ ٪، قطعات کوچکی از حاشیه‌ی بین بافت سالم وآلوده جدا شده و روی محیط کشت انتخابی آرد ذرت آگارحاوی

* بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول ارائه شده به دانشگاه شهیدچمران اهواز

** مسئول مکاتبه

www.SID.ir

Archive of SID

آنتی‌بیوتیک‌های دلواسید (دارای ۵۰٪ پیمارسین)، آمپی‌سیلین، ریفامپین و قارچ‌کش‌های بنومیل و PCNB کشت گردیدند. گونه‌ها براساس خصوصیات ریخت‌شناختی اندام‌های جنسی و غیرجنسی، میزان رشد در دماهای مختلف و ریخت شناختی پرگنه روی محیط کشت‌های مختلف شناسایی گردیدند. از بررسی ۵۸۰ جدایه بدست آمده، ۸ آرایه بر اساس خصوصیات ریخت‌شناختی و فیزیولوژیکی شناسایی شدند که به ترتیب فراوانی عبارت بودند از: *P.tracheiphilum, P. deliense*, *Pythium* G. "G", *Pythium* G. "F", *P. aphanidermatum* , *P.salinum, P.okanoganense, P.oligandrum* که از بین این آرایه‌ها، دو آرایه*P.tracheiphilum* و *P.salinum* برای میکوفلور ایران جدید می‌باشند.

مطالعات بیماری‌زایی جدایه‌ها در شرایط گلخانه‌ای در خاک سترون و با استفاده از مایه‌ی ورمیکولیت حاوی عصاره‌ی دانه شاهدانه صورت گرفت. میزان پوسیدگی بذر، تعداد بوته‌های سالم و مرده، وضعیت قسمت‌های هوایی و ریشه از نظر علائم اولیه (پژمردگی عمومی و کم رشدی) و پوسیدگی ریشه‌های اصلی و فرعی مورد بررسی قرار گرفت. پوسیدگی بذر به میزان بسیار زیاد در آرایه *Pythium aphanidermatum* و به میزان متوسط در آرایه *P. deliense* مشاهده شد. همچنین بوته‌میری به میزان زیاد در آرایه *Pythium* G. "F"، به میزان متوسط در آرایه *P. deliense* و به میزان کم در آرایه‌های *P.oligandrum* و *P. salinum* مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: *Pythium*، پوسیدگی ریشه چغندرقند، خوزستان

مقدمه

چغندرقند (*Beta vulgaris* L.) از گیاهان مهم صنعتی جهان محسوب می‌شود. این گیاه متعلق به تیره اسفناجیان Chenopodiaceae بوده و حدود۲۰۰ سال پیش، از انتخاب انواع چغندر علوفه‌ای بدست آ مده است. چغندرقند تقریباً در همه‌ی مراحل رشد و در تمامی اندام‌ها در معرض بیماری‌هایی می‌باشد که بطور مستقیم یا غیرمستقیم روی میزان محصول تاثیر می‌گذارند. بیماری‌های مختلف ریشه چغندرقند که بطور مستقیم باعث کاهش محصول شده،

www.SID.ir

Archive of SID

یکی از مهمترین عوامل کاهش عملکرد، محسوب می‌گردند که در این بین قارچ‌ها اهمیت به‌سزایی دارند. در مناطق مختلف جهان و ایران، گونه‌های متفاوتی از آرایه *Pythium* به عنوان عوامل پوسیدگی ریشه‌ی چغندر قند شناخته شده است که گاه به گیاهچه وگاه به ریشه ستبر حمله می‌کنند (Hine ,Stirrup 1939, Kreutzer & Durrell 1938 ,Middelton 1938, Tomkins1936 Van der Plaasts-Niterink Ershad 1977 , Ahmadi-Nejad 1973 ,Fatemi1971 , &Rupple 1969 Stanghellini *et. al.* 1982, 1981, Ershad 1995, Dick 1990). اولین نشانه‌ی بیماری، پژمردگی برگ‌ها در ساعات گرم روز بوده که با پیشرفت آلودگی، پژمردگی طولانی‌تر می‌گردد. با این وجود در شب گیاهان مجددا" شاداب می‌گردند ولی در صورت شدت یافتن آلودگی ممکن است گیاهان از بین بروند. آلودگی معمولا از انتهای ریشه شروع می‌شود و به سمت بالا پیشروی می‌کند و در نهایت تمامی ریشه پوسیده ونرم می‌گردد (Whitney&Dufus1986). این بیماری در خاک‌های سنگین، به ویژه در زمین‌هایی که بیش از حد آبیاری می‌گردند، دیده می‌شود. پوسیدگی ریشه اغلب در انتهای خطوط آبیاری، جایی که آب تجمع می‌یابد، بیشتر ایجاد می‌گردد. همچنین در تابستان هنگامی که دمای محیط بالا باشد، بیماری بیشتر مشاهده می‌شود.

پوسیدگی و مرگ ریشه‌های چغندرقند سال‌ها در استان خوزستان دیده می‌شد ولی اطلاع دقیقی در مورد نقش واهمیت آرایه‌های *Pythium* به عنوان عوامل مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه چغندرقند در دست نبود. به همین دلیل در سال‌های زراعی ۸۱-۸۰ و۸۲-۸۱ اقدام به شناسایی آرایه‌های پی‌تیوم عامل پوسیدگی ریشه چغندرقند و تعیین قدرت بیماری‌زایی هر کدام از آن‌ها در شرایط گلخانه‌ای شد.

مواد و روش‌ها

۱-نمونه‌برداری

۱-۱-نمونه‌برداری از خاک مزارع چغندرقند

نمونه‌برداری خاک از مزارع مختلف چغندرقند شهرهای اهواز، اندیمشک، بهبهان، دزفول،

www.SID.ir

Archive of SID

شوشتر، شوش دانیال، صفی‌آباد، مزارع چغندرقند کشت و صنعت شهید رجایی و کشت و صنعت شهید بهشتی صورت گرفت. نمونه‌برداری در هر مزرعه روی قطرهای آن انجام شد و محل نمونه‌برداری خاک، تقریبا"با فاصله‌های یکسان از یکدیگر انتخاب شد. در هر مزرعه بسته به وسعت آن، چندین نمونه‌برداری از خاک روی پشته‌ها صورت گرفت. ابتدا مقداری از خاک خشک سطحی روی پشته‌ها کنار زده می‌شد و سپس تا عمق ۲۵ تا۳۵ سانتیمتری، نمونه‌برداری انجام می‌شد و در نهایت پس از مخلوط کردن آنها، حدود دو کیلوگرم خاک جهت بررسی به آزمایشگاه منتقل می‌گردید.

۲-۱-نمونه‌برداری از گیاه چغندرقند

نمونه‌برداری از بافت گیاهی در طول فصل زراعی صورت گرفت. پس از بازرسی مزارع چغندر قند، نمونه‌های مشکوک به پوسیدگی نوک ریشه از خاک بیرون آورده می‌شد و در کیسه‌های پلاستیکی استفاده نشده و تمییز قرار می‌گرفتند و پس از انتقال به آزمایشگاه، بلافاصله مورد بررسی قرار می‌گرفتند.

۲-جدا و خالص‌سازی

۱-۲-جداسازی از خاک

برای جداسازی قارچ‌های پی‌تیوم از خاک از روش طعمه‌گذاری با برگ لیموشیرین *Citrus limetta* استفاده شد (Banihashemi1983).۳۰۰ گرم از هر نمونه در ظروف پلاستیکی یکبار مصرف ریخته شده، تا یک سانتی متر بالای سطح خاک به آن آب مقطر سترون اضافه گردید. از برگ لیموشیرین دایره‌هایی به قطر پنج میلی متر جدا و۳۰ عدد از آن‌ها در هر نمونه قرار داده شد. پس از ۲٤ ساعت نگهداری در محیط آزمایشگاه قطعات برگ با جریان آب معمولی شستشو و پس از خشک کردن با دستمال کاغذی، هفت تا ده عدد از آن‌ها به محیط کشت نیمه‌انتخابی CMA-PARP [عصاره ی ٤۰ گرم دانه ذرت خرد شده، ۲۰ میلی‌گرم دلواسید حاوی ۵۰٪ پیمارسین، ۲۵۰ میلی‌گرم آمپی‌سیلین،۱۰ میلی‌گرم ریفامپین،۱۰۰ میلی‌گرم PCNB، ۱۵ گرم آگار و یک لیتر آب مقطر (Jeffer&Martin1968)] که به آن ۵۰ میلی گرم بر لیتر بنومیل

www.SID.ir

Archive of SID

اضافه شده بود، منتقل شدند وتشتک‌های پتری در C ۲۰° نگهداری گشتند. پرگنه‌های به دست آمده پس از ۳٦ ساعت روی محیط کشت آب آگار ۲٪ کشت و به روش نوک ریسه خالص شدند (Singeltone *et al.*1990).

۲-۲- جدا سازی از گیاه چغندر قند

از بافت‌های پوسیده ریشه گیاهچه‌های چغندرقند پس از شستشو با آب معمولی و ضدعفونی سطحی با الکل اتیلیک۷۵ ٪ ، قطعات پنج تا هشت میلی متری از حاشیه بین بافت سالم وآلوده جدا شده وپس از شستشوی مجدد وخشک کردن با دستمال کاغذی، بدون ضد عفونی سطحی در محیط کشت نیمه‌انتخابی CMA-PARP حاوی بنومیل کشت داده شدند و در دمای ۲۰°C نگهداری گشتند. پرگنه‌های به دست آمده پس از ۳٦ ساعت روی محیط کشت آب آگار ۲ ٪ کشت و به روش نوک ریسه خالص شدند (Singeltone *et al.*1990).

۳-تشخیص آرایه‌های *Pythium*

برای تشخیص جدایه‌ها، تعداد معدودی از هر گروه انتخاب شد و با توجه به کلیدهای موجود (Dick 1990, Van der Plaasts-Niterink 1981) و با استفاده از شکل پرگنه و تولید ریسه‌های هوایی روی محیط کشت‌های CMA (عصاره‌ی ٤۰ گرم دانه ذرت خرد شده، ۱۵ گرم آگار و یک لیترآب مقطر) و PCA (عصاره ی۲۰ گرم هویج خرد شده، عصاره ی ۲۰ گرم سیب‌زمینی خرد شده، ۱۵ گرم آگار و یک لیتر آب مقطر) (Tuite 1969) در ۲۵ °C بررسی شد. میزان رشد روزانه جدایه‌ها روی محیط کشت PCA درسه تکرار در طیف حرارتی ٤۰°C-۵ بافواصل ۵ درجه اندازه‌گیری شد. اندام رویشی روی محیط کشت PCA و تولید اسپورانجیوم باقرار دادن قطعات پنج میلی‌متری برگ چمن (*Poa annua*) روی محیط کشت PCA به مدت ۲٤ ساعت و انتقال آن‌ها به آب مقطر و یا آب رودخانه سترون و قرار دادن در ۲۰ سانتی‌متری منبع نوری بررسی شد (Van der Plaats-Niterink 1981). اندام زایشی روی محیط‌کشت HSA (عصاره‌ی٦۰ گرم شاهدانه‌ی خرد شده، ۱۵ گرم آگار، یک لیتر آب مقطر) (Dhingra&Sinclair1985) حاوی ۳۰ میلی گرم بتاسیتوسترول در لیتر بررسی شد.

www.SID.ir

Archive of SID

٤-مطالعات بیماری‌زایی

برای اثبات بیماری‌زایی جدایه‌ها نیز تعداد معدودی از هر گروه انتخاب، و از ورمیکولیت حاوی ریسه استفاده شد. برای تهیه مایه تلقیح در هر فلاسک ۲۵۰ میلی‌لیتری، ۱۰۰ گرم ورمیکولیت به همراه ٦۰ میلی‌لیتر عصاره شاهدانه [عصاره ٦۰ گرم دانه شاهدانه در یک لیتر آب مقطر (Banihashemi 1989)] ریخته و یک بار در دمای ۱۲۱°Cبه مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو گردید. از هر کدام از جدایه‌های سه روزه که روی CMA کشت داده شده بودند، به تعداد ۵ بلوک با قطر نیم‌سانتی متر در شرایط محیطی سترون به داخل فلاسک‌ها انداخته شد تا ریسه قارچ به طور یکنواخت داخل فلاسک‌ها رشد کند. پس از یک ماه نگهداری در دمای ۲۵ °C، مایه مزبور با نسبت حجمی یک به ده با خاک سترون مخلوط گردیده، و مورد استفاده قرار گرفت.

مایه‌زنی گیاهان در لیوان‌های پلاستیکی یک بار مصرف با قطر تقریبی ۸ سانتی‌متر، در شرایط گلخانه‌ای (دمای°C ۳۵-۳۰) انجام شد. بدین‌منظور گلدان‌ها را تا عمق ۸-٦ سانتی‌متری سطح آن با خاک لومی_ رسی سترون پر کرده، پس از آبیاری، در هر گلدان ۱۰ عدد بذر چغندرقند (رقم۷۲۳۳) ضدعفونی شده با محلول هیپوکلریت سدیم ۵/. درصد کاشته شد و روی آن به ارتفاع ۳-۲ سانتی‌متر از مخلوط خاک و مایه ریخته شد. برای هر جدایه سه تکرار و برای تیمار شاهد مطابق روش چمس *وارنگ وکوک* (Chamswarng&Cook 1985) مایه بدون قارچ در نظر گرفته شد. برای مشاهده علائم بیماری گلدان‌ها تا یک ماه پس از کشت نگهداری شدند و برای جداسازی قارچ از خاک و بافت گیاه مانند قبل عمل شد و جدایه به دست آمده با جدایه مایه‌زنی شده مقایسه گردید. برای مقایسه قدرت بیماری‌زایی جدایه‌ها، تعداد بذر سبز شده، تعداد بوته‌های سالم و مرده، وضعیت قسمت‌های هوایی و ریشه از نظر علائم اولیه (کم رشدی و بوته‌میری) و پوسیدگی‌های ریشه‌های اصلی و فرعی بررسی شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه

مطالعات تاکسونومیکی

از مجموع ۵۸۰ جدایه به دست آمده از مناطق مختلف استان خوزستان، که مورد بررسی تاکسونومیکی قرار گرفتند، آرایه‌های *Pythium aphanidermatum* , *P.deliense* , *Pythium* Group "G", *P. tracheiphilum* ,*P. salinum* , *P.oligandrum* *P. okanoganense*, و *Pythium* Group "F" شناسایی شدند. در زیر به خصوصیات کلیدی هر کدام و نیز ابعاد اندام‌های جنسی وغیرجنسی آن‌ها (جدول ۱) اشاره می‌شود. لازم به توضیح است که میانگین اندازه‌گیری، ۵۰ عدد از هر اندام در نظر گرفته شده است.

جدول۱- ابعاد اندام‌های جنسی و غیرجنسی آرایه‌های *Pythium* (میکرومتر)

Table 1. Diameter of sexual and asexual organs of *Pythium* spp. (µm)

oospore wall	oospore	oogonium	sporangium	hyphal dia.	Taxon
1-3	18-24	23-27	Variable	7-9	*P. aphanidermatum*
2-3	16-23	18-25	Variable	7-8	*P. deliense*
2	18-23	22-26	31-33	9	*P. okanoganense*
1-2	22-25	25-30	20-25	4-6	*P. oligandrum*
1-2	20-25	21-25	22-26	4-6	*P. salinum*
3-4	14-18	15-18	23-29	5-7	*P. trachiephilum*
			Variable	4-6	*Pythium* G. "F"
			21-23	4-6	*Pythium* G. "G"

۱- *P. aphanidermatum* (Edson) Fitzp. : از این آرایه ۱۶۰ جدایه از تمامی مناطق چغندرکاری استان خوزستان بررسی شد. پرگنه‌ها روی محیط کشت CMA تولید ریسه‌های هوایی پنبه‌ای شکل می‌کند ولی روی محیط کشت‌های HSA, PCA فاقد ریسه‌های هوایی است. این جدایه دارای پرگنه‌ای بی‌شکل روی هر سه محیط کشت می‌باشد. اسپورانژیوم‌ها به شکل انگشتی متورم با ابعاد مختلف، روی محیط‌های کشت جامد و مایع به تعداد زیاد تشکیل می‌گردند. اُاگونیوم‌ها به شکل کروی و با دیواره صاف بوده و به صورت انتهایی تشکیل می‌شوند. آنتریدیوم‌ها گرزی شکل، پاراجینوس، مونوکلاین یا دی‌کلاین بوده و اغلب بین ریسه‌ای هستند. اُاسپور کروی، دارای دیواره صاف و بدون تزئینات بوده و حجم اُاگونیوم را پر

www.SID.ir

Archive of SID

نمی‌کند (aplerotic) (شکل ۱ و ۲). میزان متوسط رشد روزانه ۳۱ میلی‌متر در ۲۵ °C روی محیط کشت PCA بود. حرارت‌های ویژه شامل کمینه ۱۰ °C، بهینه ۳۵ °C و بیشینه ۴۰ °C بود (جدول۲).

۲- *P. deliense* Meurrs : از این آرایه ۷۰ جدایه از دزفول، شوش دانیال و صفی‌آباد بررسی شدند. این جدایه‌ها شباهت زیادی به *P. aphanidermatum* داشتند. پرگنه‌ها روی محیط‌های کشت CMA، PCA و HSA تولید ریسه‌های هوایی می‌کنند. اسپورانژیوم‌ها به شکل انگشتی متورم با ابعاد مختلف، روی محیط‌های کشت جامد و مایع به تعداد زیاد تشکیل می‌گردند. اُاگونیوم‌ها به شکل کروی و با دیواره صاف بوده و به صورت انتهایی یا بین ریسه‌ای که به سمت آنتریدیوم خم شده است، تشکیل می‌شوند. آنتریدیوم غالبا" به تعداد یک عدد، پایه‌دار و یا بدون پایه، پاراجینوس و دی‌کلاین بوده و به صورت انتهایی یا بین ریسه‌ای تشکیل می‌شوند. اُاسپور کروی، دارای دیواره صاف و بدون تزئینات بوده و حجم اُاگونیوم را پر نمی‌کند (شکل ۳ و ٤). میزان متوسط رشد روزانه ۲٦ میلی‌متر در ۲۵ °C روی محیط‌کشت PCA بود. حرارت‌های ویژه شامل کمینه ۵°C ، بهینه ۳۵ °C و بیشینه ۴۰ °C بود (جدول ۲).

جدول۲- میزان رشد جدایه‌های *Pythium* برحسب میلی‌متر در ۲٤ ساعت روی محیط کشت PCA

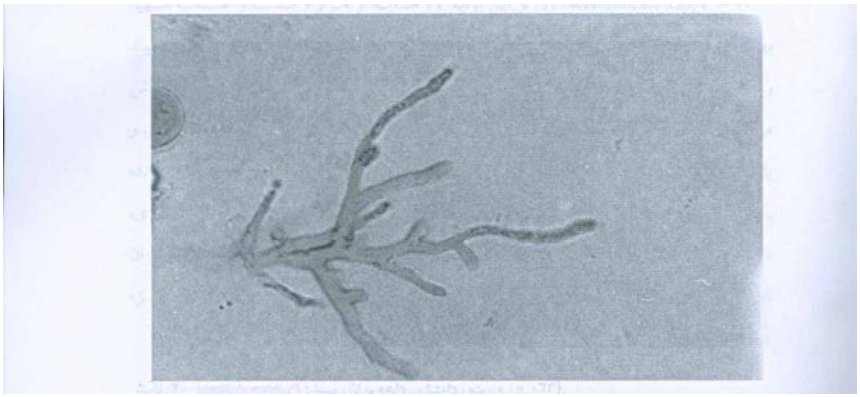
Table2. Mean daily growth rate of *Pythium* isolates on PCA (mm/24 h)

Temp. °C									Taxon
40	37	35	30	25	20	15	10	5	
30	35	38	36	31	27	15	8	0	*P. aphanidermatum*
27	30	32	28	26	20	12	7	2	*P. deliense*
17	23	27	31	25	19	10	7	1	*P. okanoganense*
0	15	23	29	23	21	15	9	2	*P. oligandrum*
0	0	9	17	25	20	14	6	0	*P. salinum*
0	0	8	14	20	15	12	5	2	*P. tracheiphilum*
10	15	20	25	22	17	11	7	1	*Pythium* G″.F″
7	11	18	26	21	19	14	6	2	*Pythium* G″.G″

*در این آزمایش از هر نمونه، ۵ جدایه و از هر جدایه سه تکرار در نظر گرفته شده، سپس میانگین رشد در هر دما در جدول ذیل آورده شده است.

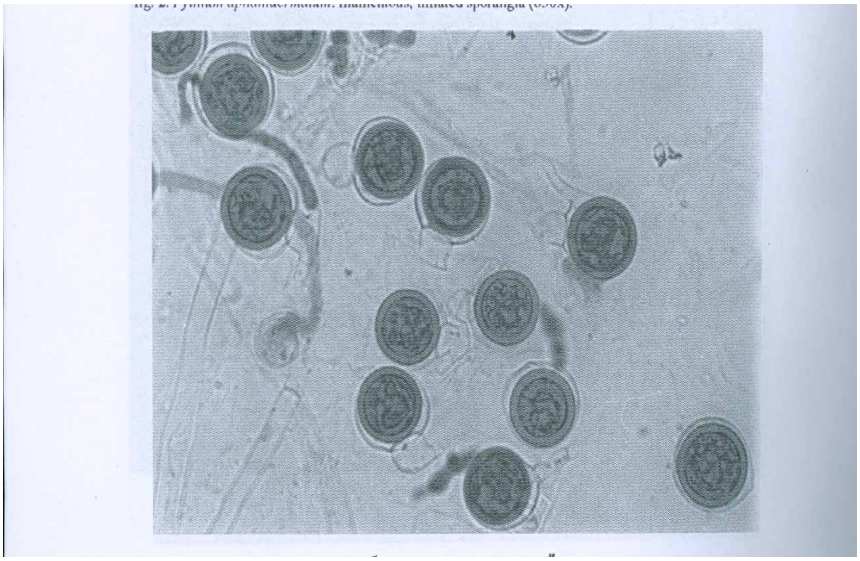
www.SID.ir

Archive of SID



شکل۱- *Pythium aphanidermatum* : اسپورانژیوم‌های رشته‌ای متورم (x ٦٣٠).

fig. 2. *Pythium aphanidermatum*: filamentous, inflated sporangia (630x).

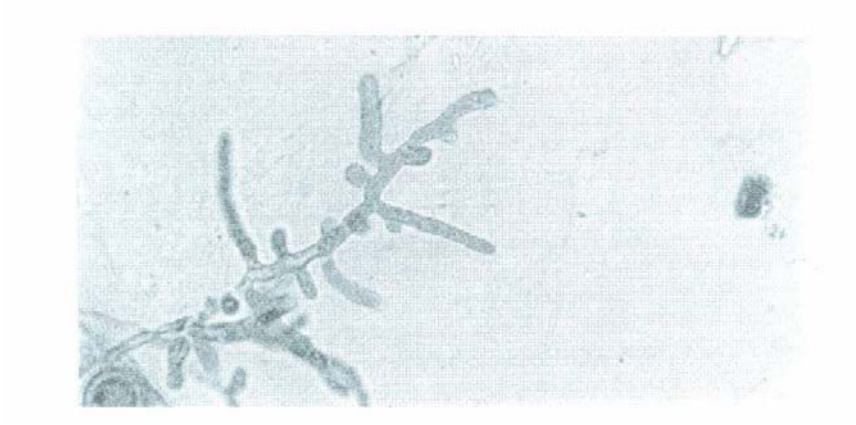


شکل۲- *Pythium aphanidermatum*: اُاگونیوم با دیواره‌ی صاف و آنتریدیوم (x٦٣٠).

Fig.2. *Pythium aphanidermatum*: oogonia with smooth wall & antheridia(630x).

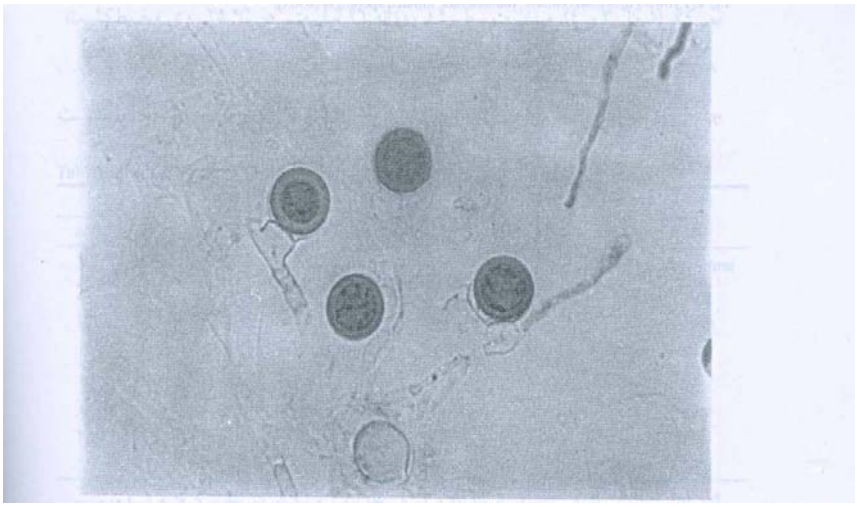
www.SID.ir

Archive of SID



شکل۳- *Pythium deliense* : اسپورانژیوم‌های رشته‌ای متورم (x ٦٣٠).

fig. 3. *Pythium delienc*: filamentous, inflated sporangia(630x).



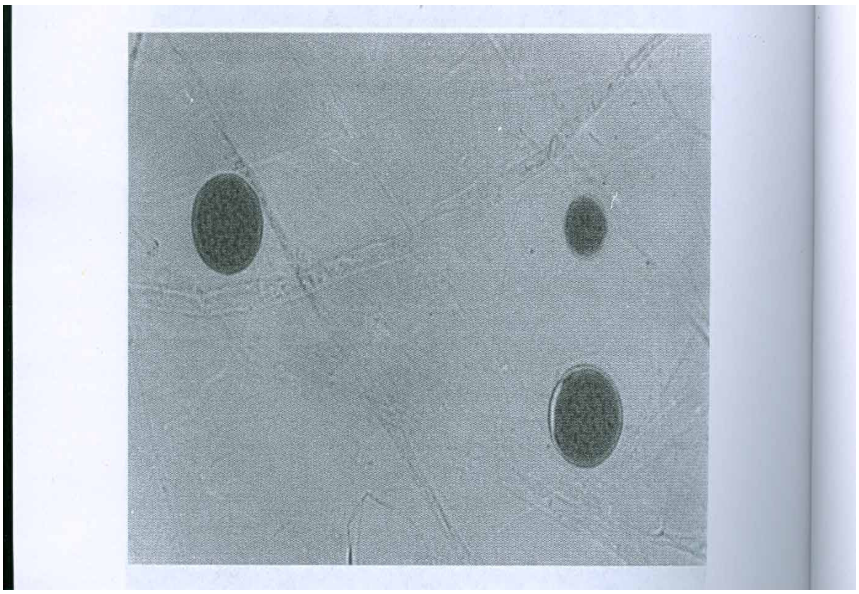
شکل٤- *Pythium deliense*: اُآگونیوم با دیواره ی صاف و آنتریدیوم(x٦٣٠).

Fig.4. *Pythium deliense*: oogonia with smooth wall & antheridia(630x).

www.SID.ir

Archive of SID

۳ – *P. okanoganense* Lipps : از این آرایه ۳٤ جدایه از مزارع کشت و صنعت شهید بهشتی و اندیمشک بررسی شدند. پرگنه‌ها روی محیط‌های کشت CMA، PCA و HSA تولید ریسه‌های تخت و بی‌شکل می‌کنند. اسپورانژیوم‌ها گرد تا گلابی شکل و دارای افزولش می‌باشند که به صورت انتهایی و یا بین ریسه‌ای تشکیل می‌گردند. اُاگونیوم‌ها به شکل کروی و با دیواره صاف بوده و به صورت انتهایی تشکیل می‌شوند. آنتریدیوم‌ها یک تا دو عدد، پاراجینوس، مونوکلاین یا دی‌کلاین بوده و به صورت انتهایی تشکیل می‌شوند. اُاسپور کروی، دارای دیواره صاف و بدون تزئینات بوده وحجم اُاگونیوم را پر نمی‌کند (شکل ۵ و ٦). میزان متوسط رشد روزانه ۲۵ میلی‌متر در °C ۲۵ روی محیط‌کشت PCA بود. حرارت‌های ویژه شامل کمینه °C ۵ ، بهینه °C ۳۰ و بیشینه °C٤۰ بود (جدول ۲).

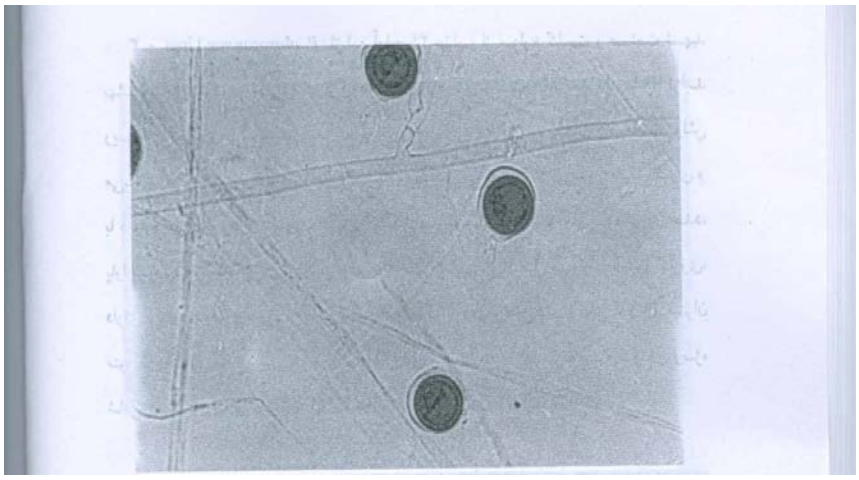


شکل۵– *Pythium okanoganense* : اسپورانژیوم‌های گرد و کروی (x ٦۳۰).

fig. 5. *Pythium okanoganense*: globose sporangia(630x).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل٦- *Pythium okanoganence*: اُاگونیوم با دیواره‌ی صاف (٦٣٠x).

Fig.6. *Pythium okanoganense*: oogonia with smooth wall (630x).

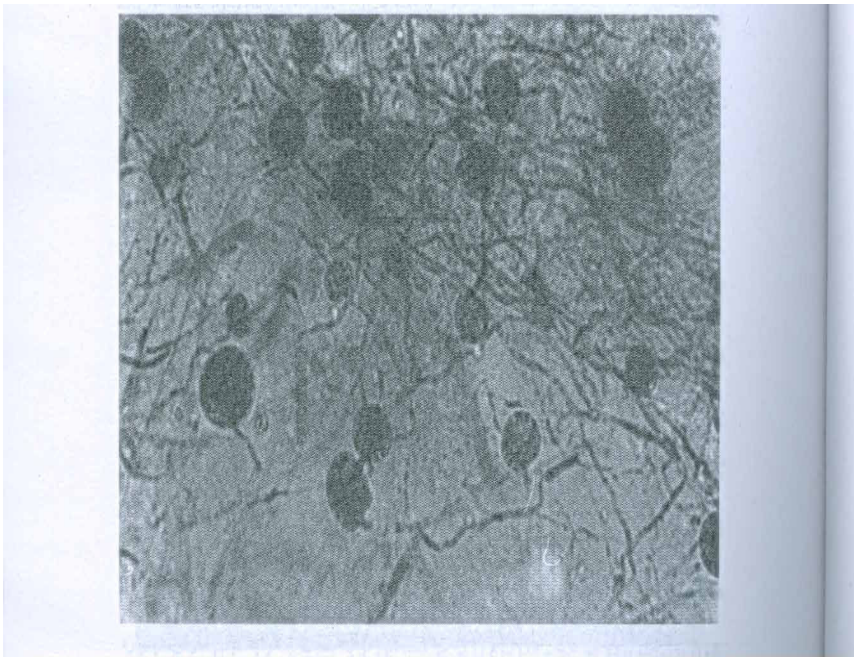
٤ – *P. oligandrum* Drechsler: از این آرایه ٥٩ جدایه از اندیمشک، دزفول، صفی‌آباد، شوشتر، مزارع کشت و صنعت شهید بهشتی و شهید رجایی بررسی شدند. پرگنه‌ها روی محیط‌های کشت CMA، PCA وHSA تولید ریسه‌های تخت و بی‌شکل می‌کنند. اسپورانژیوم‌ها رشته‌ای متورم تا گرد بوده و به صورت انتهایی و گاه بین ریسه‌ای تشکیل می‌شوند. اُاگونیوم‌ها به شکل کروی دارای زوائد مشخص و مخروطی شکل که به صورت انتهایی تشکیل می‌شوند. آنتریدیوم‌ها یک تا دو عدد، پاراجینوس، مونوکلاین یا دی‌کلاین بوده و به صورت انتهایی تشکیل می‌شوند. اُاُسپور کروی، دارای دیواره صاف و بدون تزئینات بوده و حجم اُاگونیوم را پر نمی‌کند(شکل ٧ و ٨). میزان متوسط رشد روزانه ٢٣ میلی متر در C ° ٢٥ روی محیط‌کشت PCA بود. حرارت‌های ویژه شامل کمینه C ° ٥ ، بهینه C°٣٠ و بیشینه C° ٣٧بود (جدول٢).

٥- *P. salinum* Hohnk : از این آرایه ٢٤ جدایه ازاندیمشک، بهبهان و شوشتر بررسی

www.SID.ir

Archive of SID

شدند. پرگنه‌ها روی محیط‌های کشت CMA، PCA و HSA تولید ریسه‌های تخت و بی‌شکل می‌کنند. اسپورانژیوم‌ها رشته‌ای متورم تا گرد بوده و به صورت انتهایی و گاه بین ریسه‌ای تشکیل می‌شوند. اُاُگونیوم‌ها به شکل کروی و با دیواره صاف بوده و به صورت انتهایی تشکیل می‌شوند. آنتریدیوم‌ها یک تا دو عدد، پاراجینوس، مونوکلاین یا دی‌کلاین بوده و به صورت انتهایی تشکیل می‌شوند. اُاُسپور کروی، دارای دیواره صاف و بدون تزئینات بوده که برخلاف آرایه‌های قبلی حجم اُاُگونیوم را می‌کند (plerotic) (شکل ۹ و ۱۰). میزان متوسط رشد روزانه ۲۵ میلی‌متر در ۲۵ °C روی محیط‌کشت PCA بود. حرارت‌های ویژه شامل کمینه ۱۰°C ، بهینه ۲۵ °C و بیشینه ۳۵ °C بود (جدول ۲).

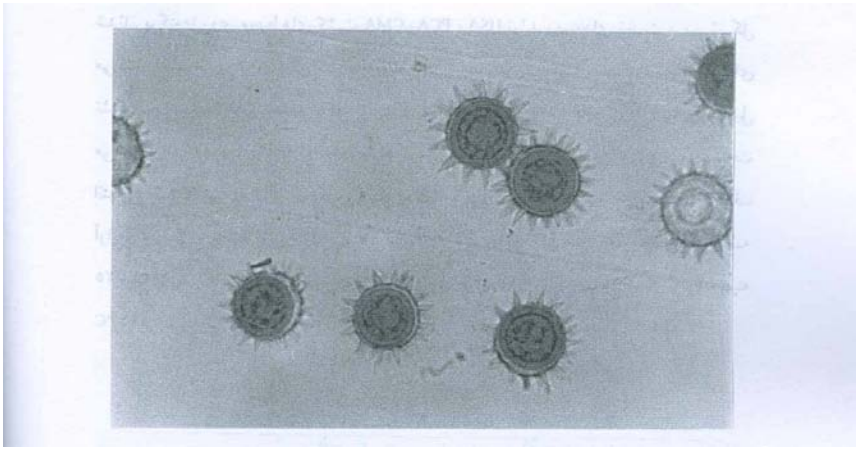


شکل۷– *Pythium oligandrum* : اسپورانژیوم‌های گرد و کروی (x ٤٠٠).

Fig. 5. *Pythium oligandrum*: globose sporangia(400x).

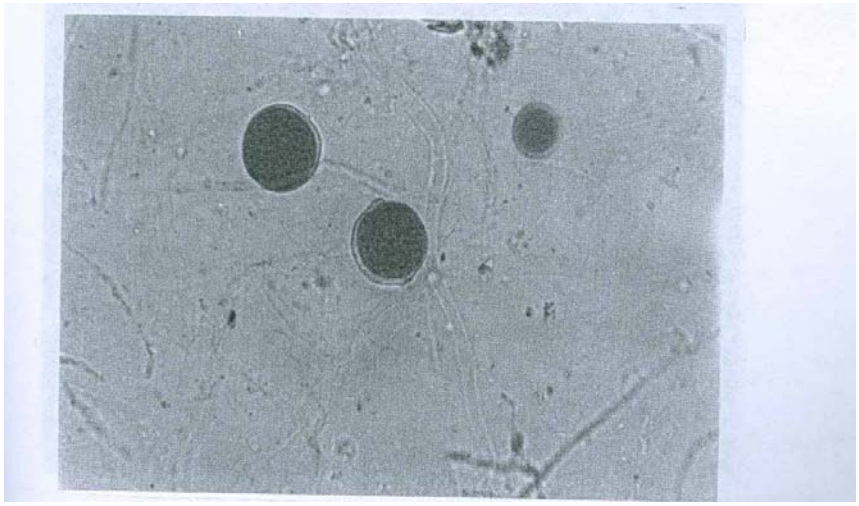
www.SID.ir

Archive of SID



شکل۸- *Pythium oligandrum*: اُاُگونیوم خاردار (٦٣٠x).

Fig.8. *Pythium oligandrum*: ornamented oogonia (630x).

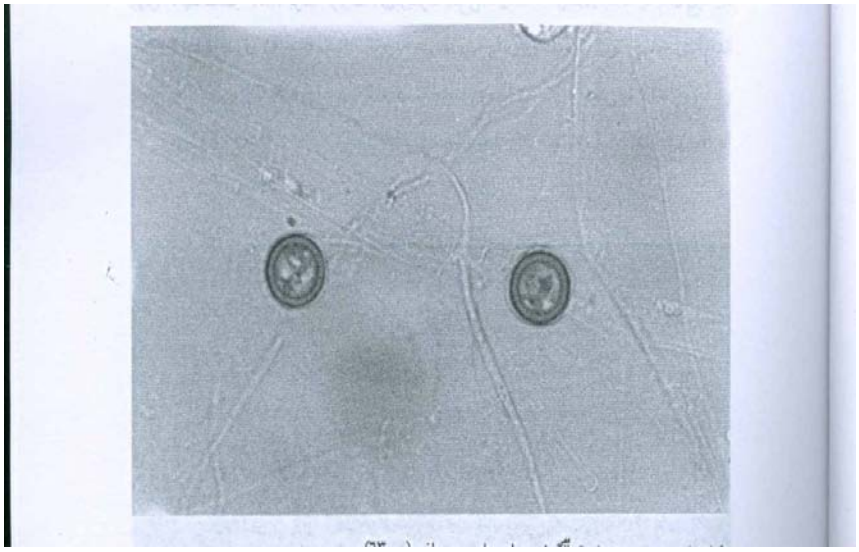


شکل۹- *Pythium salinum* : اسپورانژیوم‌های گرد و کروی (٦٣٠ x).

Fig. 9. *Pythium salinum*: globose sporangia(630x).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱۰– *Pythium salinum*: اُاگونیوم با دیواره ی صاف (٦٣٠x).

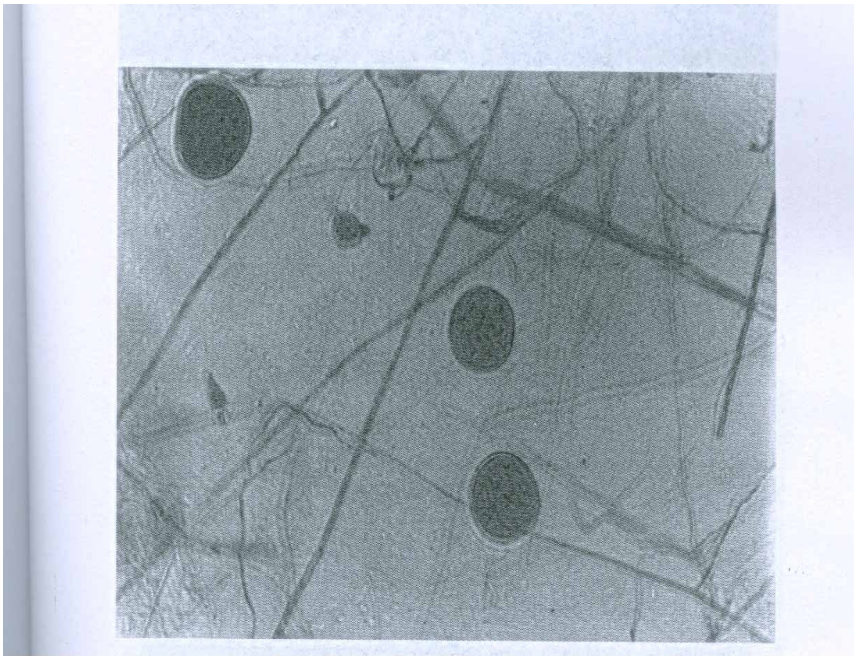
Fig.10. *Pythium salinum*: oogonia with smooth wall (630x).

٦– *P.tracheiphilum* Matta : از این آرایه ۲۰ جدایه از اهواز، دزفول، صفی‌آباد و مزارع کشت و صنعت شهید رجایی بررسی شدند. پرگنه‌ها روی محیط‌های کشت CMA، PCA و HSA تولید ریسه‌های تخت و بی‌شکل می‌کنند. اسپورانژیوم‌ها رشته‌ای متورم تا گرد بوده و به صورت انتهایی و گاه بین ریسه‌ای تشکیل می‌شوند. در برخی مواقع کلامیدوسپورها در کشت‌های قدیمی دیده می‌شوند. اُاگونیوم‌ها به شکل کروی و با دیواره صاف بوده وبه صورت انتهایی یا میانی تشکیل می‌شوند.آنتریدیوم‌ها یک تا دو عدد، پاراجینوس، مونوکلاین یا دی‌کلاین بوده و به صورت انتهایی تشکیل می‌شوند. اُاسپور کروی، دارای دیواره صاف و بدون تزئینات بوده که حجم اُاگونیوم را پر می‌کند. این آرایه نسبت به آرایه قبل دارای دیواره اُاسپور ضخیم‌تری است (شکل ۱۱ و ۱۲). میزان متوسط رشد روزانه ۲۰میلی‌متر در C ° ۲۵

www.SID.ir

Archive of SID

روی محیط‌کشت PCA بود. حرارت‌های ویـژه شـامل کمینـه ۵ °C ، بهینـه ۲۵ °C و بیشـینه ۳۵ °C بود (جدول ۲).



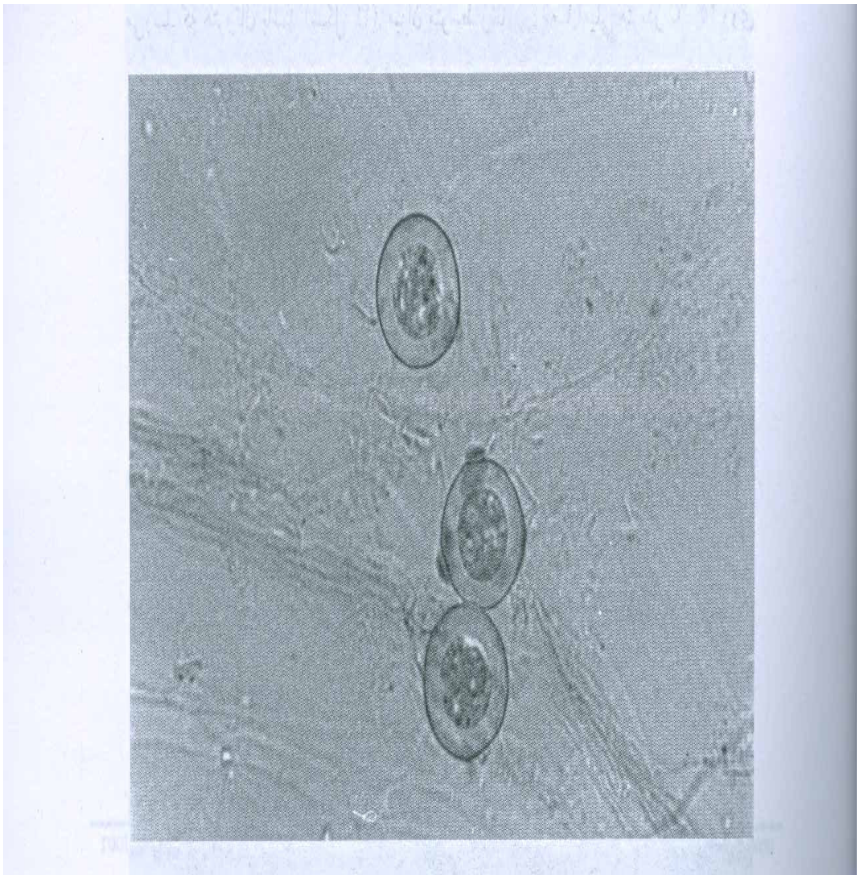
شکل ۱۱– *Pythium tracheiphilum* : اسپورانژیوم‌ای گرد و کروی (x ٦٣٠).
Fig. 11. *Pythium tracheiphilum*: globose sporangia (630x).

۷ – *Pythium* G. "F" : از این آرایه ۱۲۱ جدایـه از اهـواز، اندیمشـک، بهبهـان، دزفـول، شوشتر، شوش دانیال و صفی‌آباد بررسی شدند. پرگنه‌ها روی محیط‌های کشت CMA، PCA و HSA تولید ریسه‌های تخت و بی‌شکل می‌کنند. دارای اسپورانجیوم‌های رشته‌ای غیر قابل تمایز از ریسه بوده وتنها از روی حباب تخلیه زئوسپور می‌توان آن را ردیابی کرد. جدایه‌های موجود

www.SID.ir

Archive of SID

در هیچ‌کدام از محیط‌های جامد و مایع و دماهای مختلف از ۲۵ °C–٤ بعد از ۱۵ روز اندام‌های جنسی تولید نکردند وبه نظر می‌رسد که هتروتال باشند (شکل ۱۳). میزان متوسط رشد روزانه۲۲ میلی متر در ۲۵ °C روی محیط‌کشت PCA بود. حرارت‌های ویژه شامل کمینه ۵ °C، بهینه ۳۰ °C و بیشینه ٤۰ °C بود (جدول ۲).



شکل۱۲– *Pythium tracheiphilum*: اُاگونیوم با دیواره‌ی صاف (٦۳۰x).

Fig.12. *Pythium tracheiphilum*: oogonia with smooth wall (630x).

www.SID.ir

Archive of SID

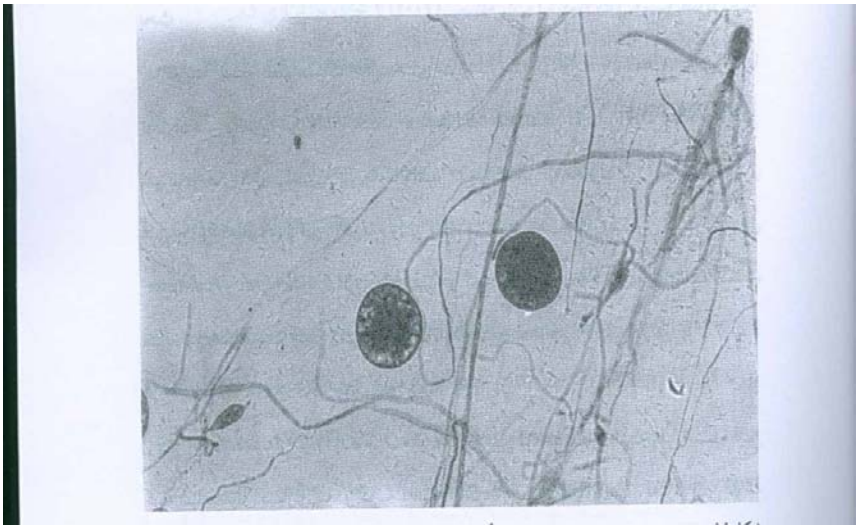
۸ – *Pythium* G. "G" : از این آرایه ۹۲ جدایه ازاهواز، اندیمشک، دزفول، شوش دانیال و صفی‌آباد بررسی شدند. پرگنه‌ها روی محیط‌های کشت CMA، PCA و HSA تولید ریسه‌های تخت و بی‌شکل می‌کنند. اسپورانژیوم‌ها به شکل گرد و کروی، روی محیط‌های کشت جامد و مایع به تعداد زیاد تشکیل می‌گردند. جدایه‌های موجود در هیچ‌کدام از محیط‌های جامد و مایع و دماهای مختلف از ۲۵–٤ °C بعد از ۳۰ روز اندام‌های جنسی تولید نکردند و به نظر می‌رسد که هتروتال باشند (شکل ١٤). میزان متوسط رشد روزانه ۲۱میلی متر در ۲۵ °C روی محیط‌کشت PCA بود. حرارت‌های ویژه شامل کمینه ۵ °C، بهینه۳۰ °C و بیشینه ٤٠ °C بود (جدول ۲).

شکل۱۳– *Pythium* G. "F" : اسپورانژیوم‌های رشته‌ای (٤٠٠ x).

Fig. 13. *Pythium* G. " F": filamentous sporangia (400x).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ١٤– *Pythium* G. "G" : اسپورانژیوم‌های گرد و کروی (x ٦٣٠).

Fig. 14. *Pythium* G. "G": globose sporangia (630x).

مطالعات بیماری‌زایی

از ٨ آرایه به دست آمده، ٥ آرایه بیماری‌زا بودند. نتایج حاصل از این مطالعات به صـورت کامل در جدول شماره ٣ آمده است.

جدول ٣– بیماری‌زایی جدایه‌های .*Pythium* spp بر روی چغندرقند

Table 2. Pathogenicity of *Pythium* spp. on sugar beet

root rot %	crown root %	dead%	preemerg. %rot	seed rot %	No. geern. %seeds	Taxon
0	0	0	0	0	30	control
0	0	0	0	100	0	*P. aphanidermatum*
26.9	6.6	33.3	3.3	26.2	22	*P. deliense*
0	0	0	0	0	30	*P. okanoganense*
13	0	13.3	0	3.3	29	*P. oligandrum*
20	0	13.3	6.6	0	23	*P. salinum*
0	0	0	0	0	30	*P.tracheiphilum*
53.4	6.6	60	0	3.3	29	*Pythium* G. "F"
0	0	0	0	0	30	*Pythium* G. "G"

*برای هر تیمار ٣٠ بذر در ٣ لیوان یک بار مصرف(١٠ بذر در هر لیوان)به کار رفت

*30 seeds in 3 diseposable wax cup were used for each treatment(10seeds/cup)

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

تقریبا" تمام خصوصیات جدایه‌های مورد بررسی در آرایه *P. aphanidermatum* با توصیف‌های واندرپلاتس (van der Plaasts-Niterink 1981) تطابق دارد.این گونه از لحاظ داشتن اسپرانژیوم‌های انگشتی متورم با ابعاد مختلف، آنتریدیوم‌هایی که معمولا" بین سلولی هستند و اُاُسپورهایی که فضای داخلی اُاُگونیوم را پر نمی‌کنند، شباهت‌های بسیاری با دو گونه‌ی *P. deliense* و *P. indigofera* دارد. اما در این دو گونه اُاُگونیوم در محل پایه خود به سمت آنتریدیوم خمیده شده وقطر کمتری دارد. گونه *P. aphanidermatum* اولین بار در ایران توسط *بنی‌هاشمی* (۱۹۶۹) از خاک جدا سازی شد.

آرایه *P. deliense* مطابق با توصیف‌های *واندرپلاتس* (۱۹۸۱) قابل تشخیص است. این گونه شباهت‌های بسیاری با دو گونه *P. aphanidermatum* و *P. indigofera* دارد. این گونه ازلحاظ داشتن پایه اُاُگونیومی که به سمت آنتریدیوم خمیده شده، آنتریدیومی کشیده‌تر که به ندرت به حالت مونوکلاین دیده می‌شود و اسپورانژیوم‌هایی که بهم پیچیدگی و فشردگی کمتری دارند، از گونه *P. aphanidermatum* قابل تشخیص است. در *P. indigofera* لوله تخلیه زئوسپور کوتاه است .ومعمولا"به صورت جانبی تشکیل می‌شود. دو گونه *P. aphanidermatum* و*P. deliense* در محیط کشت‌های غنی دارای رشد سریع‌تری نسبت به گونه *P. indigofera* هستند. گونه *P. deliense* اولین بار در ایران توسط *افضلی و بنی‌هاشمی* (۲۰۰۰) از چغندرقند جداسازی شد.

آرایه *P. okanoganense* مطابق با توصیف‌های *واندرپلاتس* (۱۹۸۱) قابل تشخیص است و به لحاظ داشتن اسپورانژیوم‌هایی با افزولش از دو گونه *P. irregulare* و *P. ultimum* متمایز می‌شود. همچنین در *P. irregulare* دیواره اُاسپور نازک‌تر و در *P. ultimum*، آنتریدیوم‌های مونوکلاین بلافاصله در زیر اُاُگونیوم تشکیل می‌شوند. گونه *P. okanoganease* اولین بار در

www.SID.ir

Archive of SID

ایران توسط *مستوفی‌زاده قلمفرسا و بنی‌هاشمی* (۲۰۰۲) از خاک جداسازی شد.

در مقایسه آرایه *P. oligandrum* با جدایه‌های توصیف شده در *واندرپلاتس* (۱۹۸۱) تفاوت چندانی قابل مشاهده نیست. اُاُگونیوم‌ها دارای زوائد مشخص ومخروطی شکل هستند که به صورت انتهایی تشکیل می‌شوند. اسپورانژیوم‌ها مجموعه‌ای به هم فشرده، رشته‌ای متورم تا گرد بوده که به صورت انتهایی و گاه بین ریسه‌ای تشکیل می‌شوند. این نوع اسپورانژیوم در سایر گونه‌هایی که دارای اُاُگونیوم‌های خاردار می‌باشند، مشاهده نشده است. گونه *P. oligandrum* اغلب بیمارگر گیاهان مناطق گرمسیر می‌باشد. این گونه قدرت بیماری‌زایی بسیار کمی بر روی چغندرقند دارد که در بیشتر موارد قابل توجه نمی‌باشد (Vesely 1977). برخی از جدایه‌های این گونه دارای توانایی فرا انگلی روی سایر اُاُمیست‌ها مثل *P. ultimum, P. debaryanum, P. aphanidermatum* و *Aphanomyces laevis* و برخی از قارچ‌های بیمارگر گیاهی مثل *Rhizoctonia solani* و *Fusarium caculmorum* و برخی از بازیدیومیست‌ها می‌باشد (van der Plaasts-Niterink 1981). گونه *P. oligandrum* اولین بار در ایران توسط *ارشاد* (۱۹۷۷) از چمن جداسازی شد.

درمونوگراف *واندرپلاتس* (۱۹۸۱) توصیف زیادی در مورد آرایه *P. salinum* نشده است. این آرایه به دلیل نداشتن آنتریدیوم‌های هیپوجینوس از دو گونه *P. rostratum* و *P.hypogynum* قابل تشخیص است. این آرایه دیواره اُاُسپور نازک‌تری نسبت به گونه *P. tracheiphilum* دارد.

در جدایه‌های *P. tracheiphilum* میانگین دمای بهینه و بیشینه حدوداً ۵ °C با مونوگراف *واندرپلاتس* (۱۹۸۱) تفاوت داشت. اما در سایر موارد تفاوت‌ها جزئی بود. این آرایه با داشتن اُاُگونیوم‌هایی به شکل کروی و با دیواره صاف، آنتریدیوم‌ها یک تا دو عدد، پاراجینوس، مونوکلاین یا دی‌کلاین، اُاُسپوری کروی با دیواره صاف و بدون تزئینات که حجم اُاُگونیوم را پر می‌کند، شباهت بسیاری باگونه *P. salinum* دارد. اما این گونه دیواره اُاُسپور ضخیم‌تری

www.SID.ir

Archive of SID

نسبت به گونه *P. salinum* دارد.

گروه "F" .*Pythium* G طبق مونوگراف *واندرپلاتس* (۱۹۸۱) شامل جدایه‌های هتروتالی است که دارای اسپورانژیوم‌های غیرقابل تمایز با ریسه هستند و تنها به آرایه *P. felevoense* شباهت دارد ولی از نظر برخی ویژگی‌ها از آن متمایز است.

گروه "G" .*Pythium* G طبق مونوگراف *واندرپلاتس* (۱۹۸۱) شامل جدایه‌های هتروتالی است که دارای اسپورانژیوم‌های کروی هستند و تنها به آرایه *P. elongatum* شباهت دارد ولی از نظر برخی ویژگی‌ها از آن متمایز است.

مطالعات فوق نشان می‌دهد که آرایه‌های پیتیوم می‌توانند به طرق مختلف بر روی چغندرقند بیماری‌زا و خسارت‌زا باشند. نکته مهم این است که آرایه‌های مختلف پیتیوم در پتانسیل ماتریک رطوبتی و دمایی خاصی دارای حداکثر فعالیت و بیماری‌زایی هستند که شناخت این محدوده رطوبتی و دمایی برای مدیریت بیماری مهم است.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات 49-47 متن انگلیسی مراجعه شود.

نشانی نگارندگان: نازنین زمانی نور و دکتر واهه میناسیان گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز و دکتر ضیاءالدین بنی‌هاشمی و مهندس رضا مستوفی‌زاده قلمفرسا، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

www.SID.ir