Archive of SID

# ردیابی و تغییرات جمعیت عوامل بیماری‌زای گیاهی در پساب کارخانه‌قند و مزارع چغندرقند آبیاری شده با پساب در استان کرمان

# Detection and fluctuations of plant pathogens in sugar factory's waste and sugar beet fields irrigated with waste in Kerman province

غلامرضا برادران*[۱]، محمد مهدی امینایی[۱] و محمدعلی جواهری[۱]

تاریخ دریافت: ۸۴/۱۱/۲۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۷/۸/۲۵

**غ. ر. برادران، م. م. امینایی و م. ع. جواهری. ۱۳۸۷.** ردیابی و تغییرات جمعیت عوامل بیماری‌زای گیاهی در پساب کارخانه‌قند و مزارع چغندرقند آبیاری شده با پساب در استان کرمان. **مجله چغندرقند ۲٤(۱): ۷۵-٦۱**

## چکیده

**ریشه‌های چغندرقند به همراه خاک چسبیده به آن پس‌از برداشت جهت فرآوری به کارخانه‌های قند حمل‌شده و در اولین مرحله توسط فشار آب شستشو می‌شوند. آب گل‌آلود حاصل‌از شستشوی ریشه‌ها به‌عنوان پساب کارخانه توسط کانال به مزارع منطقه انتقال یافته و جهت آبیاری مورد استفاده قرار می‌گیرد. با توجه به امکان انتقال عوامل بیماری‌زا توسط خاک و آب، طی سال ۱۳۸٤یک بار در هفته در زمان فعالیت کارخانه‌قند بردسیر از پساب کارخانه نمونه‌برداری شد و نمونه‌ها همان روز به آزمایشگاه منتقل گردید. جداسازی عوامل بیماری‌زا از هر نمونه پساب با استفاده‌از روش طعمه‌گذاری با برگ مرکبات و استفاده‌از ریشه‌های سالم چغندرقند، آبیاری گیاهچه‌های چغندرقند با پساب کارخانه، کشت روی محیط انتخابی PARPHو کشت قطرات پساب روی محیط‌های PDA,CMA,NA,MA و WA انجام شد. جداسازی نماتدها با ریختن پساب در الک با مش‌های مختلف انجام شد. با استفاده‌از روش‌های فوق قارچ‌های *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp., *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Pythium aphanidermatum Pythium* sp., *Phytophthora cryptogea, Ph.drechsleri, Mucor* sp. *Rhizoctonia solani,Geotrichum* sp. و باکتری *Erwinia carotovora* و سیست‌های نماتد *Heterodera schachtii* جداسازی گردید و بیماری‌زایی این عوامل بر روی گیاهچه و برش‌های ریشه چغندرقند اثبات گردید. بررسی تغییرات جمعیت عوامل بیماری‌زا با استفاده‌از روش طعمه‌گذاری با برگ مرکبات و کشت قطرات پساب روی محیط‌های MA,NA, و PDA انجام شد. نتایج حاصل نشان داد قارچ‌های خانواده Pythiaceae و باکتری *Erwinia carotovora* در ابتدای دوره فرآوری دارای جمعیت بیشتری در پساب بوده و جمعیت قارچ‌های *Alternaria alternata*، *Rhizoctonia solani* و *Fusarium* spp. در طی دوره نمونه‌برداری یکنواخت بود. جمعیت قارچ‌های *Mucor* sp., *Aspergillus* spp., *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium* spp. و *Geotrichum* sp. در اواخر دوره نمونه‌برداری افزایش داشت. جمعیت سیست‌های نماتد *Heterodera schachtii* در دوره نمونه‌برداری متغیر بود. عوامل بیماری‌زای فوق‌از مزارع تحت آبیاری با پساب نیز جداسازی گردید.**

**واژه‌های کلیدی:** پساب، تغییرات جمعیت، چغندرقند، عوامل بیماریزا، کارخانه‌قند

۱- مربی پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمان *- نویسنده مسئول ghbaradaran@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID



## مقدمه

کاشت چغندرقند در استان کرمان به‌عنوان یک گیاه صنعتی از لحاظ اقتصاد محلی و تولید مواداولیه جهت کارخانه‌قند بردسیر، در ایجاد اشتغال کشاورزی و صنعتی اهمیت به‌سزایی دارد. علی‌رغم این اهمیت سطح زیرکشت چغندرقند در استان کرمان در چند سال گذشته از ۴۵۰۰ هکتار به حدود نصف کاهش یافته است. حدود ۷۰درصد از اراضی زیرکشت چغندرقند در شهرستان بردسیر و مابقی در سایر مناطق استان کرمان ازجمله سیرجان، باغین، ماهان و راین قرار دارد. درصدقند در منطقه به‌طور متوسط ۱۷/۵درصد است که عیارقند نسبتاً بالایی در کشور به‌حساب می‌آید.

در حال حاضر مشکلات متفاوتی در راه کشت و افزایش عملکرد چغندرقند در استان کرمان وجود دارد که ازجمله می‌توان به خسارت بیماری‌های گیاهی، کم آبی، پایین بودن راندمان آبیاری، یکپارچه نبودن اراضی و عدم مدیریت صحیح، عدم مبارزه مناسب با علف‌های هرز، مشکلات کارخانه‌قند و غیره اشاره کرد. در بین این عوامل بیماری‌های خاکزاد مختلفی ازجمله پوسیدگی‌های ریشه و طوقه، مرگ گیاهچه، پژمردگی آوندی، پوسیدگی نرم باکتریایی، نماتد سیستی چغندرقند شدیداً مشکل‌ساز شده و باعث کاهش شدید کمیت و کیفیت محصول در استان گردیده‌اند. خسارت این بیماری‌ها در برخی مزارع به حدی زیاد است که نیاز به کاشت مجدد می‌باشد.

بازیافت آب در خزانه‌ها و تولید محصولات کشاورزی با توجه به کمبود جهانی آب یکی از راه‌های مهم حفاظت از منابع آب است et (Hong al.2003). روش‌های رایج بازیافت، تعدادی از عوامل بیماری‌زای مهم و دارای خسارت اقتصادی را به سامانه آبیاری بازگردانده و آن‌ها را در مزرعه پراکنده می‌کند. عوامل بیماری‌زای دارای خسارت اقتصادی که توسط آب بازیافتی پخش می‌شوند شامل باکتری‌ها، نماتدها و اامیست‌ها هستند. آب بازیافت شده به‌عنوان منبع و حامل اصلی اینوکولوم عمل می‌کند و باعث همه‌گیری بیماری در محصولات می‌شود. کیفیت آب آبیاری در بیشتر شرایط به صورت بالقوه در افزایش فشار بیماری نقش دارد. بنابراین ردیابی عوامل بیماریزا در آب بازیافتی برای کنترل بیماری‌های قابل انتقال با آب اهمیت زیادی دارد (Hong et al.2002).

برخی مطالعات نشان‌دهنده همبستگی مثبت بین آبیاری با آب آلوده به عوامل بیماری‌زا و بیماری‌های گیاهی است. آب آبیاری به‌عنوان منبع قابل توجهی‌از اندام‌های بارور قارچی در آبیاری محصول عمل می‌کند (Bush et al. 2003).

یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زا که توسط آب پراکنده می‌شود Phytophthora است و

www.SID.ir

Archive of SID



خسارت ایجاد شده در یک فصل تا ۱۰۰درصد می‌رسد. بررسی‌ها نشان داده است که در آب بازیافتی که برای آبیاری خزانه گل‌های زینتی استفاده شد دست کم ۱۲ گونه از جنس Phytophthora ردیابی شده است (Themanni et al.2002). قارچ *Phytophthora capsici* در آب رودخانه، مخازن و جوی‌ها در مناطق سبزی‌کاری ایالت میشیگان جداسازی گردید(Gevens et al. 2007). در بررسی دیگری جدایه‌های قارچ‌های *P. nicotianae* , *P. capsici* , *P. cinnamomi*, *P.citrophthora citricola*, *P. cryptogea*, *P. megasperma* از آب آبیاری خزانه‌ها جداسازی گردیده است(Hong et al. 2003).

تغییرات جمعیت گونه‌های قارچ‌های *Phytophthora* و *Pythium* در آب بازیافت شده که برای آبیاری به کار می‌رفت بررسی گردید (Bush et al. 2003). قارچ *Phytophthora nicotianae* در آب آبیاری مزارع با روش Polymerase Chain Reaction ردیابی گردید (Kong et al. 2003).

در بررسی انجام شده از آب آبیاری مزارع سبزیجات عوامل بیماریزای *Phytophthora*, *Pythium*, و *Xanthomonas* جداسازی گردید (McGovern et al. 2002). در آب بازیافت شده که در منطقه جنوب غربی ویرجینیا جهت آبیاری گیاهان گلدانی در خزانه مورد استفاده قرار می‌گرفت قارچ‌های خانواده Pythiaceae جداسازی گردید (Bush 2002).

باکتری *Erwinia* در آب بازیافت شده از حوضچه‌ها که جهت آبیاری گیاهان زینتی در خزانه مورد استفاده قرار می‌گرفت جداسازی گردید (Norman et al. 2003). افضلی دشت بیاض (۱۳۷۷) قارچ *Pythium aphanidermatum* را از ریشه چغندرقند در فارس جداسازی و گزارش کرد. هم‌چنین برخی گونه‌های Phytophthora از آب رودخانه کر که جهت آبیاری مزارع به‌کار می‌رود جداسازی شد. برادران و همکاران (۱۳۷۹) قارچ *Phytophthora cryptogea* را از ریشه چغندرقند در کرمان حداسازی و گزارش کردند.

درمناطق چغندرکاری استان کرمان ریشه‌های چغندرقند به همراه خاک چسبیده به آن پس‌از برداشت جهت فرآوری به کارخانه‌قند بردسیر حمل شده و در اولین مرحله توسط فشار آب شستشو می‌شوند. آب گل‌آلود حاصل‌از شستشوی ریشه‌ها به عنوان پساب کارخانه توسط کانال به مزارع منطقه انتقال یافته و جهت آبیاری مورد استفاده قرار می‌گیرد.

با توجه به این‌که مهم‌ترین بیماری‌های شایع در منطقه مربوط به عوامل خاکزی بوده و توسط خاک و آب منتقل می‌شوند، ردیابی عوامل

www.SID.ir

Archive of SID



بیماری‌زای گیاهی در پساب کارخانه‌قند بردسیر و پراکنش آن‌ها در مزارع تحت آبیاری و تغییرات جمعیت این عوامل درپساب کارخانه‌قند در منطقه بردسیر بررسی شد.

## مواد و روش‌ها

### ۱- ردیابی و ارزیابی جمعیت عوامل بیماری‌زا در پساب

طی سال ۱۳۸۴ از نیمه مهرماه تا آخر بهمن‌ماه همزمان با شروع و خاتمه تحویل چغندرقند به کارخانه، یک بار درهفته یک لیتر از پساب کارخانه‌قند بردسیر نمونه‌برداری شد. درجه‌حرارت پساب در محل اندازه‌گیری شده و نمونه‌ها همان روز به آزمایشگاه منتقل گردید و pH و EC آن‌ها مشخص شد. جداسازی و ارزیابی جمعیت قارچ‌های خانواده Pythiaceae به روش طعمه‌گذاری با استفاده‌از برگ و کشت روی محیط انتخابی PARPH (CMA حاوی پیمارسین، آمپی‌سیلین، ریفامپیسین، PCNB و همیکسازول)انجام شد. با استفاده‌از چوب‌پنبه سوراخ‌کن سترون، دیسک‌های پنج میلی‌متری از برگ‌های لیموشیرین و لیموترش که پس‌از شستشو با آب شیر، با الکل ۷۵درصد ضدعفونی سطحی شده بودند تهیه گردید. دو ظرف پتری سترون انتخاب و پس‌از ریختن بیست میلی‌لیتر از پساب در هر ظرف، پنج دیسک ازهر نوع برگ (مجموعاً ده دیسک) در سطح پساب شناور شد. ظروف پتری به مدت بیست و چهار ساعت در محیط آزمایشگاه نگه‌داری شد. دیسک‌های برگ برروی کاغذ استریل آبگیری شد و روی محیط انتخابیPARPH کشت گردید. به مدت ۴۸ ساعت پس‌از کشت، دیسک‌های آلوده به قارچ‌های خانواده Pythiaceae مشخص و جهت شناسایی نسبت به خالص‌سازی آن‌ها اقدام شد وتعداد دیسک‌های آلوده به هر گونه تعیین گردید ( ارشاد۱۳۷۱ و Pettitt et al. 2002).

هم‌چنین پس‌از رقیق‌سازی یک میلی‌لیتر از پساب در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون، یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاصل روی محیط های,CMA PDA, MA NA, و WA پخش گردید. محیط‌های کشت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت نگه‌داری شده و نسبت به خالص‌سازی و شمارش پرگنه‌ها اقدام گردید. به منظور ردیابی سایر عوامل بیماری‌زا در پساب بذور ارقام رسول و شیرین به عنوان بذر رایج منطقه در گلدان حاوی خاک سترون کشت شده و برای هر نمونه پساب، پنج گلدان حاوی گیاهچه، دو بار در هفته با پساب کارخانه آبیاری گردید. پس از بروز علائم بیماری، عوامل بیماری‌زا از آن‌ها جدا شد و نسبت به خالص‌سازی و شناسایی آن‌ها اقدام گردید. گلدان‌های شاهد توسط آب‌مقطر استریل آبیاری شد. هم‌چنین با چوب‌پنبه سوراخ‌کن به قطر پنج میلی‌متر قطعاتی از غده‌های سالم چغندرقند جداشده و پس‌از ریختن قطراتی از پساب کارخانه به درون حفره ایجاد شده قطعه برداشته شده

www.SID.ir

Archive of SID



مجدداً جایگزین شده و با روغن وازلین پوشانده شد و پس از ۲ تا ۷ روز از بافت‌های تغییر رنگ یافته نسبت به جداسازی عوامل بیماری‌زا اقدام گردید. جداسازی نماتدها با ریختن پساب در الک با مش‌های مختلف انجام شد (Southey 1986).

## ۲- جداسازی عوامل بیماری‌زا از مزارع آبیاری شده با پساب

### ۲-۱- جداسازی عوامل باکتریایی

از اواسط فصل بهار نمونه‌برداری از قسمت‌های زیرزمینی بوته‌های چغندرقند دارای علایم پوسیدگی و لهیدگی غده، نکروز آوندی و گال و سایر علایم مشکوک به بیماری‌های باکتریایی انجام شد. پس‌از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه نمونه‌های مشکوک به باکتری با آب شستشو شده، در شرایط استریل بافت‌های آلوده به قطعات کوچک تقسیم گردید. قطعات در ظروف پتری حاوی آب‌مقطر استریل قرار داده شده و یا در هاون چینی استریل له‌شده و پس‌از حدود ۳۰ دقیقه نسبت به مختطط کردن سوسپانسیون حاصل روی محیط NA اقدام گردید. پس‌از حدود ۳۶ ساعت، پرگنه‌هایی که دارای رشد کندتری بوده و ریز بودند و دارای جمعیت غالب در محیط کشت بودند انتخاب شده و خالص‌سازی گردید. به منظور اطمینان از رشد باکتری‌های بیماری‌زا، محیط کشت‌ها تا ۱۰ روز در انکوباتور نگه‌داری و بررسی شد و نسبت به خالص‌سازی آن‌ها اقدام گردید. پس از اثبات بیماری‌زایی نسبت به شناسایی جدایه‌هایی که دارای قدرت بیماری‌زایی بودند اقدام گردید (Goszczynska et al. 2000; Schaad et al. 2001).

### ۲-۲- جداسازی عوامل قارچی

به منظور بررسی و جدا سازی عوامل بیماری‌زای قارچی، ریشه‌ها پس‌از شستشو با آب معمولی برش داده شد و از حدفاصل بافت سالم و آلوده قطعاتی تهیه و در محلول هیپوکلریت سدیم ۵/ در هزار به‌مدت ۳۰ ثانیه ضدعفونی شد. قطعات با آب مقطر سترون آبکشی شده و پس‌از آبگیری با کاغذصافی سترون به قطعات کوچک تقسیم شده و بر روی محیط کشت‌های انتخابی و نیمه انتخابی و محیط‌های معمول کشت گردید و در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. پس‌از رشد پرگنه‌ها نسبت به خالص‌کردن آن با روش نوک ریسه یا تک‌اسپور کردن اقدام لازم به‌عمل آمد و سپس با استفاده‌از کلیدهای موجود نسبت به شناسایی آن‌ها اقدام گردید (Singlton et al. 1992).

### ۲-۳-جداسازی سیست‌های نماتد

باتوجه به وسعت مزارع آبیاری‌شده با پساب کارخانه در هر منطقه چند مزرعه که نشان‌دهنده وضع کلی منطقه بود انتخاب گردید و نمونه‌برداری مرکب از آن‌ها انجام پذیرفت. پس‌از ثبت مشخصات، نمونه‌ها جهت استخراج و بررسی سیست‌ها به آزمایشگاه منتقل شد.

www.SID.ir

Archive of SID



استخراج سیست‌ها از ۱۰۰ گرم خاک نمونه‌برداری شده با استفاده‌از دستگاه فنویک انجام شد (Southey 1986).

## ۳- اثبات بیماریزایی

### ۳-۱-اثبات بیماریزایی عوامل باکتریایی

از جدایه‌های خالص جهت اثبات بیماری‌زایی استفاده شده و بر روی بوته‌های چغندرقند ارقام رسول و شیرین در گلخانه و برش‌های ریشه چغندرقند در آزمایشگاه مایه‌زنی شد. پس‌از مایه‌زنی عکس‌العمل بوته‌ها و اصول کخ مورد بررسی قرار گرفت (Goszczynska et al. 2000; Schaad et al.2001).

### ۳-۲-اثبات بیماری‌زایی عوامل قارچی

**الف) استفاده‌از گیاه‌چه چغندرقند**

به منظور اثبات بیماری‌زایی، از بوته‌های سالم چغندرقند ارقام رسول و شیرین رشد یافته در خاک پاستوریزه و عاری‌از آلودگی و در شرایط گلخانه استفاده شد. در این روش زادمایه قارچ با رشد دادن قارچ بر روی گندم و جو و ماسه سترون بدست آمد. سپس ۱۰ گرم زادمایه در کنار طوقه و ریشه گیاهان تحت آزمایش قرار داده شد. در مورد شاهد از گندم و جو و ماسه سترون بدون وجود قارچ استفاده گردید.

**ب) استفاده از ریشه‌های کامل**

در این روش برای هر قارچ پنج عدد ریشه سالم و بدون‌زخم انتخاب و ریشه‌ها با آب معمولی شستشو داده شد. سپس در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه ضدعفونی گردید و با آب مقطر سترون آبکشی شد. پس‌از خشک شدن سطح ریشه‌ها، توسط چوب پنبه سوراخ‌کن ۵ میلی‌متری در اطراف ریشه چهار حفره به عمق ۶-۵ میلی‌متر ایجاد شد. برای مایه‌زنی از حاشیه کشت ۷-۳ روزه قارچ یک قطعه پنج میلی‌متری در سه حفره قرارداده شد. در حفره چهارم از محیط کشت سترون فاقد قارچ به عنوان شاهد استفاده شد و سپس روی هر حفره با پارافین یا وازلین پوشانده شد. نمونه‌ها درون ماسه مرطوب سترون با رطوبت‌نسبی ۳ تا ۷ درصد و در درجه حرارت ۲۳-۱۶ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. پس از ۱۵ روز با اندازه‌گیری میزان پوسیدگی و تغییررنگ و میزان نفوذ قارچ داخل بافت شدت بیماری‌زایی قارچ بررسی گردید. مجدداً از بافت‌های آلوده از دورترین نقطه نسبت به نقطه مایه‌زنی کشت داده شده و بازیافت قارچ عامل بیماری انجام گردید.

**ج) استفاده از روش تشتک‌های پتری سترون**

در این روش ریشه‌های سالم چغندرقند که بدون زخم و خراش می‌باشند انتخاب گردید و سپس با آب معمولی کاملاً شستشو داده شده و سپس داخل محلول یک درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۲۰-۱۵ دقیقه قرار

www.SID.ir

Archive of SID



داده شده و پس از آبکشی با آب‌مقطر سترون و خشک نمودن نمونه‌ها در شرایط استریل قطعاتی به قطر ۷-۵ سانتی‌متر و ضخامت ۱-۰/۵ سانتی‌متر تهیه و سپس توسط قطعات پنج میلی‌متری که از حاشیه کشت‌های ۷-۳ روزه قارچ به دست آمده بود با استفاده‌از خراش سطحی و بدون خراش سطحی مایه‌زنی گردید.

در مورد شاهداز محیط کشت سترون فاقد قارچ استفاده گردید و سپس تشتک‌ی پتری در درجه حرارت ۱+ ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰-۷ روز نگه‌داری گردید و سپس میزان نفوذ و نحوه پوسیدگی توسط قارچ ثبت شد و تأثیر قارچ نسبت به شاهد ارزیابی گردید (Singlton et al. 1992).

**٤- شناسایی عوامل بیماری‌زا**

جدایه‌هایی که بیماری‌زایی آن‌ها اثبات گردید با استفاده‌از کلیدهای مناسب (جهت قارچ‌ها) و آزمون‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی (جهت باکتری‌ها) و تهیه مخروط انتهایی وبررسی لاروها (جهت نماتدها) شناسایی شدند. (Van Der Plaats Niterink 1981; Barnett and Hunter 1972; Goszczynska et al. 2000; Stamps 1990; Dick 1990; Nelson et al.1983; Schaad et al. 2001; Erwin and Ribeiro 1996)

## نتایج

در طول زمان نمونه‌برداری ۱۸ نمونه از پساب گرفته شد. درجه حرارت (برحسب سانتی‌گراد) ، EC (برحسب µmohs)، pH و تعدادکلنی جدا شده در هر نمونه درسال ۸۴ در جداول ۱و ۲ مشاهده می‌شود.

**جدول ۱** مشخصات نمونه‌های پساب کارخانه‌قند بردسیر(پاییز سال ۱۳۸۴)

| هفته یا (شماره نمونه) | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | ۶ | ۷ | ۸ | ۹ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| درجه حرارت (سانتی‌گراد) | ۲۹ | ۲۹ | ۲۸ | ۲۷ | ۲۸ | ۲۹ | ۲۸ | ۲۷ | ۲۷ |
| pH | ۸/۴ | ۸/۲ | ۷/۶ | ۸/۳ | ۸/۱ | ۸ | ۷/۸ | ۸/۴ | ۷/۷ |
| EC(µmohs) | ۱۱۲۳ | ۱۱۲۱ | ۱۱۲۰ | ۱۱۲۲ | ۱۱۲۴ | ۱۱۲۳ | ۱۱۲۲ | ۱۱۲۱ | ۱۱۲۴ |
| تعداد کل کلنی های جداشده | ۱۱۱ | ۱۰۹ | ۱۰۶ | ۱۰۸ | ۱۰۹ | ۱۱۴ | ۱۱۳ | ۱۱۹ | ۱۱۶ |

www.SID.ir

Archive of SID

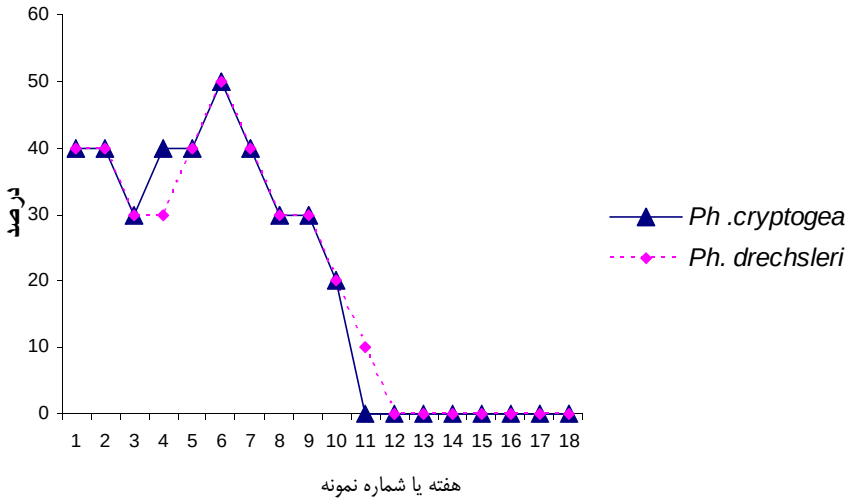


**ادامه جدول ۱** مشخصات نمونه‌های پساب

| هفته یا (شماره نمونه) | ۱۰ | ۱۱ | ۱۲ | ۱۳ | ۱۴ | ۱۵ | ۱۶ | ۱۷ | ۱۸ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| درجه حرارت(سانتی‌گراد) | ۲۹ | ۲۹ | ۲۹ | ۲۹ | ۲۸ | ۲۸ | ۲۸ | ۲۷ | ۲۹ |
| pH | ۷/۹ | ۷/۶ | ۸/۲ | ۸/۴ | ۸/۴ | ۸ | ۷/۹ | ۸/۱ | ۸/۳ |
| EC(µmohs) | ۱۱۲۲ | ۱۱۲۳ | ۱۱۲۱ | ۱۱۲۲ | ۱۱۲۰ | ۱۱۲۳ | ۱۱۲۳ | ۱۱۲۱ | ۱۱۲۲ |
| تعداد کل کلنی‌های جداشده | ۱۱۶ | ۱۱۳ | ۱۲۰ | ۱۲۴ | ۱۲۴ | ۱۳۰ | ۱۳۶ | ۱۳۲ | ۱۳۰ |

با استفاده از روش‌های فوق قارچ‌های *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp., *Alternaria alternata*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Pythium aphanidermatum Pythium* sp., *Phytophthora cryptogea*, *Ph.drechsleri*, *Mucor* sp. *Rhizoctonia solani*,*Geotrichum* sp. و باکتری *Erwinia caratovora* و سیست‌های نماتد *Heterodera schachtii* از پساب جداسازی گردید.

براساس نتایج حاصل درصد دیسک‌های آلوده شده برگ مرکبات توسط قارچ‌های خانوادهPythiaceae درهفته‌های اول بیشتر بوده و به تدریج با گذشت زمان و نزدیک‌شدن به هفته‌های آخر تعداد آن‌ها کاهش می‌یابد. نتایج حاصل در شکل‌های ۱و۲ ارایه شده است.

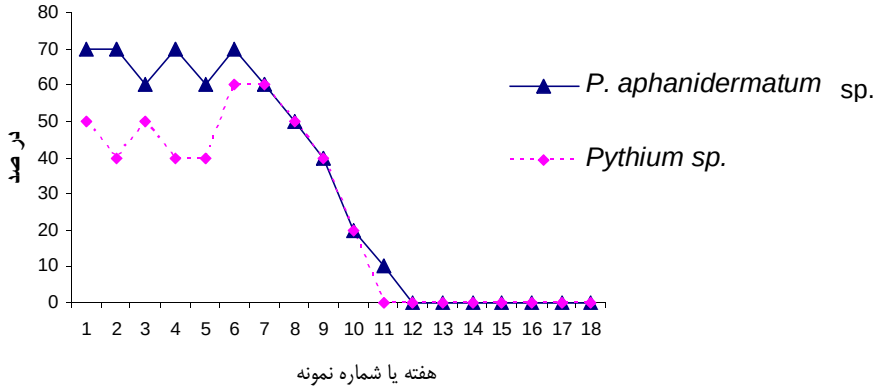



**شکل ۱** نمودار درصد دیسک‌های آلوده شده توسط گونه‌های **Phytophthora**

www.SID.ir

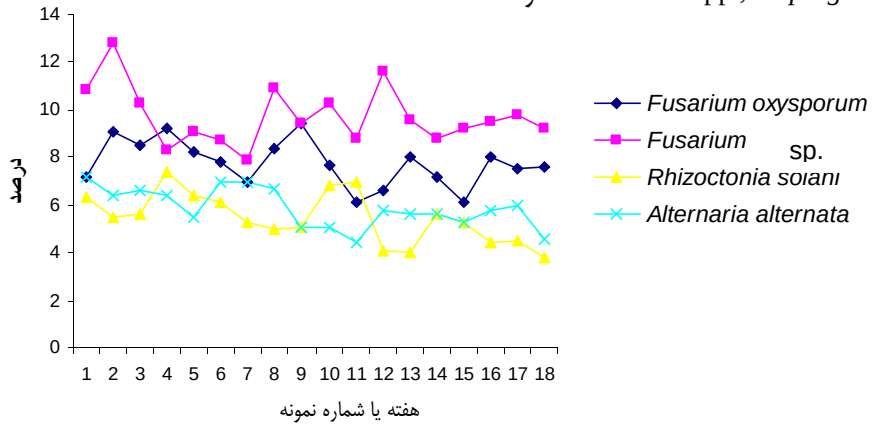
Archive of SID






**شکل ۲** نمودار درصد دیسک‌های آلوده شده توسط گونه‌های **Phthium**

شمارش کلنی‌های رشد کرده بر روی محیط‌های کشت بیان‌گر ثبات نسبی تعداد پرگنه‌های قارچ‌های *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Alternaria alternata* کاهش تعداد پرگنه‌های باکتری *Erwinia carotovora* در دوره نمونه برداری بود. تعداد پرگنه‌های قارچ‌های *Rhizopus stolonifer*, *Geotrichum* sp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., و *Mucor* sp. در طول دوره نمونه‌برداری افزایش یافته و تعداد سیست‌های نماتد *Heterodera schachtii* در دوره نمونه‌برداری متغیر بود. نتایج حاصل به‌صورت درصد جمعیت پرگنه‌های هر عامل بیماری‌زا در هفته‌های مختلف نمونه‌برداری در شکل‌های ۳، ۴ و ۵ ارایه شده است.

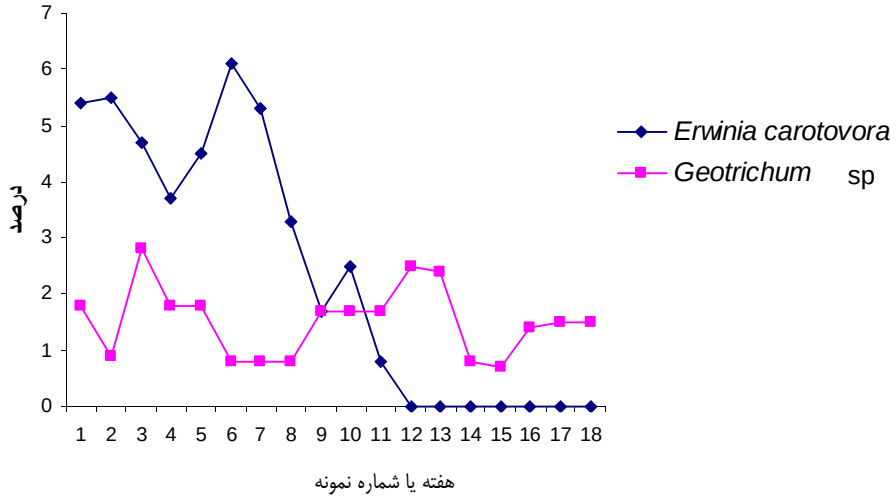



**شکل ۳** نمودار فراوانی پرگنه‌های قارچ‌ها در دوره فرآوری در پساب

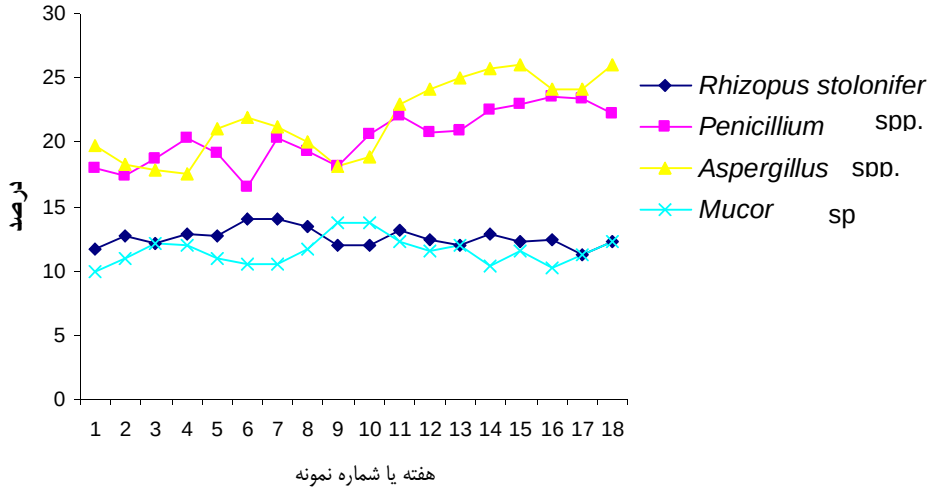
www.SID.ir

Archive of SID






**شکل ٤** نمودار فراوانی پرگنه‌های عوامل بیماری‌زا در دوره فرآوری در پساب




**شکل ٥** نمودار فراوانی پرگنه‌های قارچها در دوره فرآوری در پساب

www.SID.ir

Archive of SID



همچنین در نمونه‌برداری از مزارع تحت آبیاری با پساب عوامل بیماری‌زای مختلف ازجمله *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp., *Pythium aphanidermatum*, *Pythium* sp., *Phytophthora cryptogea*, *Ph.drechsleri*, *Rhizoctonia solani*, و باکتری *Erwinia carotovora* و سیست‌های نماتد *Heterodera schachtii* از خاک و ریشه جداسازی گردید. حداکثر تعداد سیست‌های جدا شده از یک لیتر پساب ۲۵ عدد بود و تعداد تخم و لارو شمارش شده در ۱۰ عدد سیست ۸۷۰ عدد بود و لاروها همگی زنده بودند. بیماری‌زایی این عوامل بر روی گیاهچه و برش‌های غده چغندرقند اثبات گردید.

## بحث

براساس نتایج حاصل‌از بررسی تغییرات جمعیت عوامل بیماری‌زا در پساب کارخانه‌قند بردسیر در دوره فرآوری چغندرقند، تعداد دیسک‌های برگ مرکبات آلوده به خانواده Pythiaceae بیان‌گر وجود جمعیت بیشتر این قارچها در اوایل دوره فرآوری بود. گرچه قارچهای خانواده Pythiaceae دارای اندام مقاوم به صورت ااسپور می‌باشد سایر اندام‌های بارور قارچها جهت بقا و جوانه‌زنی نیاز به رطوبت دارد. در اوایل دوره فرآوری اندام‌های بارور قارچ در خاک همراه غده‌ها فعال هستند و با گذشت زمان خاک همراه غده‌ها خشک شده و جمعیت قارچ پس‌از هفته دهم کاهش می‌یابد. باکتری *Erwinia carotovora* باعث پوسیدگی نرم ریشه چغندرقند می‌شود. جمعیت این باکتری نیز با خشک شدن خاک همراه غده‌ها کاهش می‌یابد نتایج حاصل‌از این تحقیق با نتایج دیگر محققان در سایر کشورها ازجمله نتایج بوش و همکاران (Bush et al. 2003) که بیان‌گر تفاوت جداسازی و جمعیت قارچ‌های Pythium و Phytophthora در طول دوره نمونه‌برداری می‌باشد هماهنگ است. هم‌چنین تعداد وتنوع گونه‌های عوامل بیماری‌زای جدا شده نیز در طول دوره نمونه‌برداری متغیر است. نتایج به دست آمده توسط نورمن و همکاران (Norman et al. 2003) که بیان‌گرجداسازی گونه‌های مختلف *Erwinia* در بین باکتری‌های بیماری‌زا از آب بازیافتی بود با نتایج تحقیقات انجام شده در کرمان همخوانی دارد.

ثبات نسبی تعداد پرگنه‌های قارچهای *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani* مربوط به وجود اندام‌های مقاوم این قارچها در خاک، دارا بودن قدرت ساپروفیتی بالا و عدم وابستگی آن‌ها جهت بقاء به رطوبت می‌باشد.

قارچ *Alternaria alternata* یکی از عوامل بیماری‌زا در برگ چغندرقند بوده و باعث لکه برگی و سوختگی برگ می‌شود. وجود این قارچ در پساب به دلیل مقاومت بالای اسپور آن و همراه بودن برگ‌ها و بقایای گیاهی آلوده به این قارچ با غده‌های برداشت شده می‌باشد. قارچ‌های *Rhizopus stolonifer*,

www.SID.ir

Archive of SID



*Geotrichum* sp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., و *Mucor* sp. دارای قدرت ساپروفیتی زیادی هستند و به عنوان عوامل خسارت‌زای پس‌از برداشت در چغندرقند مطرح هستند. با گذشت زمان در دوره فرآوری به دلیل توانایی ساپروفیتی، جمعیت این قارچ‌ها افزایش می‌یابد و بر اثر فعالیت این عوامل در طول زمان و روند افزایش آلودگی درصد قند در غده‌ها کاهش پیدا می‌کند.

با توجه به پراکندگی مزارع آلوده به نماتد سیستی چغندرقند در منطقه، بسته به این که پساب، حاصل‌از شستشوی چغندرهای مربوط به مزارع آلوده و یا غیرآلوده باشد، تعداد سیست‌های نماتد *Heterodera schachtii* در دوره نمونه‌برداری متغیر بود. در نمونه‌برداری از مزارع تحت آبیاری با پساب عوامل، بیماری‌زای مختلف ازجمله *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp., *Pythium aphanidermatum*, *Pythium* sp., *Phytophthora cryptogea*, *Ph.drechsleri*, *Rhizoctonia solani*, و باکتری *Erwinia carotovora* و سیست‌های نماتد *Heterodera schachtii* از خاک و ریشه جداسازی گردید. براساس منابع موجود وبررسی‌های انجام شده توسط ویتنی ودافوس (Whitney and Duffus 1986) تمام این عوامل بیماری‌زا خاکزی بوده و توسط آب آبیاری و خاک منتقل می‌شوند. جداسازی این عوامل از مزارع تحت آبیاری با پساب کارخانه‌قند بردسیر بیان‌گر اهمیت و نقش پساب در پراکنش عوامل بیماری‌زا می‌باشد. مزارعی که در اثر آبیاری با پساب آلوده شده‌اند به عنوان منبع آلودگی ثانویه عمل می‌کنند و باعث افزایش جمعیت عوامل بیماری‌زا شده و موجب انتشار و گسترش وسیع این عوامل در منطقه می‌شوند.

با توجه به وجود عوامل بیماری‌زای مختلف در پساب کارخانه‌قند و انتقال آن‌ها به مزارع چغندرقند که طی سال‌های متمادی انجام شده است تراکم زادمایه در مزارع آبیاری شده با پساب افزایش زیادی یافته و انجام تناوب حداقل پنج ساله با گیاهان غیر میزبان مانند گندم و ذرت ضروری است. هم‌چنین اتخاذ روشی مناسب جهت کاهش خسارت ناشی‌از پراکنش این عوامل توسط پساب کارخانه الزامی بوده و بدین منظور می‌توان قبل‌از ورود پساب به مزارع، حوضچه‌های رسوب جهت ته‌نشین شدن برخی عوامل بیماری‌زا و استفاده‌از عوامل میکروبی جهت کنترل این عوامل را توصیه نمود. با توجه به نتایج حاصل‌از بررسی انجام شده توسط هونگ و همکاران (Hong et al. 2003) اضافه نمودن کلر قبل‌از ورود آب بازیافتی به مزارع در کاهش جمعیت عوامل بیماری‌زا مؤثر است. این روش پس‌از انجام تحقیقات لازم یکی دیگر از پیشنهادات عملی جهت کاهش جمعیت عوامل بیماری‌زا می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID



## منابع مورد استفاده: References:


ارشاد،ج. ۱۳۷۱.گونه‌های فیتوفتورا در ایران (جداسازی- خالص‌سازی- شناسایی). چاپ اول، سازمان تحقیقات کشاورزی، ۲۱۷صفحه.

افضلی دشت‌بیاض،ح. ۱۳۷۷. انتشار عامل پوسیدگی فیتوفتورایی ریشه چغندرقند توسط آب‌های جاری کشاورزی حوضه آبخور منطقه مرودشت. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشگاه شیراز، ۱۴۷صفحه.

برادران، غ. خسروفر، ف. بنی‌هاشمی، ض.۱۳۷۹. نقش Phytophthora در پوسیدگی ریشه چغندرقند در استان کرمان، خلاصه مقالات چهاردهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. اصفهان، صفحه ۲۵۲.

Barnett HL, Hunter B (1972) Illustrated Genera of Imperfect Fungi.Burgess Publishing Company, Minnesota.241 pp.

Bush EA (2002) Characterization of *Phytophthora* species in recycled irrigation water at a container nursery in southwestern Virginia. Master's Thesis of Virginia Polytechnic Institute and State University.146 pp.

Bush EA, Hong CX, Stromberg EL ( 2003) Fluctuations of *Phytophthora* and *Pythium* spp. in components of a recycling irrigation system. Plant Disease. 87:1500-1506.

Dick MW (1990) Keys to Pythium. Department of Botany School of Plant Sciences University of Reading Press:64 pp.

Erwin D, Ribeiro OK (1996) Phytophthora Diseases Worldwide. APS Press, Minnesota :560 pp.

Gevens AJ, Donahoo RS, Lamour KH, Hausbeck MK (2007) Characterization of *Phytophthora capsici* from Michigan surface irrigation water. Phytopathology. 97:421-428.

Goszczynska T, Serfontein JJ, Serfontein S (2000) Introduction to Practical Phytobacteriology, ARC-PPRI , Johannesburg: 83 pp.

Hong CX, Richardson PA, Kong P (2002) Comparison of membrane filters as a tool for isolating pythiaceous species from irrigation water. Phytopathology. 92:610-616.


www.SID.ir

Archive of SID



Hong CX, Richardson PA, Kong P, Bush EA (2003) Efficacy of chlorine on multiple species of *Phytophthora* in recycled nursery irrigation water. Plant Disease . 87:1183-1189.

Kong P, Hong CX, Jeffers SN, Richardson PA ( 2003) A species-specific polymerase chain reaction assay for rapid detection of *Phytophthora nicotianae* in irrigation water. Phytopathology. 93:822-831.

McGovern RJ, Gainesville FL, Roberts PD (2002) Evaluation of the Potential of Recovered Tail Water to Serve as a Source of Pathogens for Vegetable Crops. University of Florida-IFAS.

Nelson P, Toussoun TA, Marasas WFO (1983) Fusarium Species: an Illustrated Manual for Identification,Pennsylvania University.193 pp.

Norman DJ, Yuen JMF, Resendiz R, Boswell J (2003) Characterization of Erwinia populations from nursery retention ponds and lakes infecting ornamental plants in Florida. Plant Disease . 87:193-196.

Pettitt TR, Wakeham A J, Wainwright MF, White JG (2002) Comparison of serological, culture and bait methods for detection of Pythium and Phytophthora zoospores in water. Plant Pathology. 51: 720–727.

Schaad NW, Jones JB, Chun W (2001) Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Minnesota: APS Press. 373 pp.

Singlton LL, Mihail JD, Rush CM (1992) Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi .APS Press. New York: 480 pp.

Southey JF (1986) Laboratory Methodes for Work with Plant and Soil Nematodes. Minstry of Agriculture, Fisheries and Food, England: 202 pp.

Stamps DJ (1990) Revised Tabular Key to the Species of Phytophthora. CAB International Mycological Institute. Mycological Papers,No. 162.

www.SID.ir

Archive of SID



Themann K, Werres S, Luttmann R, Diener HA (2002) Observations of *Phytophthora* spp. in water recirculation systems in commercial hardy ornamental nursery stock. European Journal of Plant Pathology. 108: 337–343.

Van Der Plaats Niterink AJ (1981) Monograph of the Genus Pythium. Studies in Mycology No. 21, 242 pp.

Whitney ED, Duffus JE (1986) Compendium of Beet Diseases and Insects. APS Press. NewYork: 76 pp.

www.SID.ir