

ردیابی و تغییرات جمعیت عوامل بیماری‌زای گیاهی در پساب کارخانه‌قند و مزارع چغندر قند 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*، 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 چغندر قند آبیاری شده با پساب در استان کرمان. مجله چغندر قند ۲۴(۱): ۶۱-۷۵

چکیده

ریشه‌های چغندر قند به همراه خاک چسبیده به آن پس از برداشت جهت فرآوری به کارخانه‌های قند حمل شده و در اولین مرحله توسط فشار آب شستشو می‌شوند. آب گل‌آلود حاصل از 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 ۱۳۸۴ یک 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 استفاده از روش طعمه‌گذاری با برگ مرکبات و استفاده از ریشه‌های سالم چغندر قند، آبیاری گیاهچه‌های چغندر قند با پساب کارخانه، کشت روی محیط انتخابی PARPH و کشت قطرات پساب روی محیط‌های PDA, CMA, NA, MA و WA انجام شد. جداسازی نمادها با ریختن پساب در الک با مش‌های مختلف انجام شد. با استفاده از روش‌های فوق قارچ‌های *Fusarium oxysporum*, *Fusarium sp.*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.*, *Pythium aphanidermatum* *Pythium sp.*, *Erwinia* باکتری، *Phytophthora cryptogea*, *Ph.drechleri*, *Mucor sp.* *Rhizoctonia solani*, *Geotrichum sp.* و *carotovora* و سیست‌های نماد *Heterodera schachtii* جداسازی گردید و بیماری‌زایی این عوامل بر روی گیاهچه و برش‌های ریشه چغندر قند اثبات گردید. بررسی تغییرات جمعیت عوامل بیماری‌زا با استفاده از روش طعمه‌گذاری با برگ مرکبات و کشت قطرات پساب روی محیط‌های MA, NA, PDA و 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 *Geotrichum sp.* و *Penicillium spp.*، *Rhizopus stolonifer*، *Aspergillus spp.*، *Mucor sp.* در اواخر دوره نمونه‌برداری افزایش داشت. جمعیت سیست‌های نماد *Heterodera schachtii* در دوره نمونه‌برداری متغیر بود. عوامل بیماری‌زای فوق از مزارع تحت آبیاری با پساب نیز جداسازی گردید.

واژه‌های کلیدی: پساب، تغییرات جمعیت، چغندر قند، عوامل بیماری‌زا، کارخانه‌قند

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

مقدمه

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

در حال حاضر مشکلات متفاوتی در راه کشت و افزایش عملکرد چغندر قند در استان کرمان وجود دارد که از جمله می‌توان به خسارت بیماری‌های گیاهی، کم‌آبی، 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 از جمله پوسیدگی‌های ریشه و طوقه، مرگ گیاه‌چه، پژمردگی آوندی، پوسیدگی نرم باکتریایی، نماتد سیستی چغندر قند 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 (Hong et 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، نامتدها و امیست‌ها 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 توجهی از 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

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). افزلی دشت بیاض (۱۳۷۷) قارچ *Pythium aphanidermatum* را از ریشه چغندر قند در فارس جداسازی و گزارش کرد. هم‌چنین برخی گونه‌های *Phytophthora* از آب رودخانه کر که جهت آبیاری مزارع به کار می‌رود جداسازی شد. برادران و همکاران (۱۳۷۹) قارچ *Phytophthora cryptogea* را از ریشه چغندر قند در کرمان جداسازی و گزارش کردند.

در مناطق چغندر کاری استان کرمان ریشه‌های چغندر قند به همراه خاک چسبیده به آن پس از برداشت جهت فرآوری به کارخانه‌قند بردسیر حمل شده و در اولین مرحله توسط فشار آب شستشو می‌شوند. آب گل‌آلود حاصل از شستشوی ریشه‌ها به عنوان پساب کارخانه توسط کانال به مزارع منطقه انتقال یافته و جهت آبیاری مورد استفاده قرار می‌گیرد.

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

خسارت ایجاد شده در یک فصل تا ۱۰۰ درصد 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. P. nicotianae*, *P. capsici*, *P. cinnamomi*, *citricola*, *P. citrophthora*, *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*, *Xanthomonas* و *Pythium* جداسازی گردید (McGovern et al. 2002). در آب بازیافت شده که در منطقه جنوب غربی ویرجینیا جهت آبیاری

ساعت در محیط آزمایشگاه نگهداری شد. دیسک‌های برگ بر روی کاغذ استریل آبیگری شد و روی محیط انتخابی PARPH کشت گردید. به مدت ۴۸ ساعت پس از کشت، دیسک‌های آلوده به قارچ‌های خانواده Pythiaceae مشخص و جهت شناسایی نسبت به خالص‌سازی آن‌ها اقدام شد و تعداد دیسک‌های آلوده به هر گونه تعیین گردید (ارشاد ۱۳۷۱ و Pettitt et al. 2002).

هم‌چنین پس از رقیق‌سازی یک میلی‌لیتر از پساب در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون، یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاصل روی محیط‌های PDA, CMA, 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 چغندر قند جدا شده و پس از ریختن قطراتی از پساب کارخانه به درون حفره ایجاد شده قطعه برداشته شده

بیماری‌زای گیاهی در پساب کارخانه‌قند بردسیر و پراکنش آن‌ها در مزارع تحت آبیاری و تغییرات جمعیت این عوامل در پساب 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 چغندر قند به کارخانه، یک بار در هفته 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 استفاده از برگ و کشت روی محیط انتخابی PARPH (حاوی پیمارسین، آمپی‌سیلین، ریفامپیسین، PCNB و همیکسازول) انجام شد. با استفاده از چوب‌پنبه سوراخ‌کن سترون، دیسک‌های پنج میلی‌متری از برگ‌های لیموشیرین و لیموترش که پس از شستشو با آب شیر، با الکل ۷۵ درصد ضد عفونی سطحی شده بودند تهیه گردید. دو ظرف پتری سترون انتخاب و پس از ریختن بیست میلی‌لیتر از پساب در هر ظرف، پنج دیسک از هر نوع برگ (مجموعاً ده دیسک) در سطح پساب شناور شد. ظروف پتری به مدت بیست و چهار

نسبت به شناسایی جدایه‌هایی که دارای قدرت بیماری‌زایی بودند اقدام گردید (Goszczyńska et al. 2000; Schaad et al. 2001).

۲-۲- جداسازی عوامل قارچی

به منظور بررسی و جدا سازی عوامل بیماری‌زای قارچی، ریشه‌ها پس از شستشو با آب معمولی برش داده شد و از حدفاصل بافت سالم و آلوده قطعاتی تهیه و در محلول هیپوکلریت سدیم ۵/۵ در هزار به مدت ۳۰ ثانیه ضد عفونی شد. قطعات با آب مقطر سترون آبکشی شده و پس از آبگیری با کاغذ صافی سترون به قطعات کوچک تقسیم شده و بر روی محیط کشت‌های انتخابی و نیمه انتخابی و محیط‌های معمول کشت گردید و در دمای ۲۵+۱ درجه سانتی‌گراد نگاه‌داری شد. پس از رشد پرگنه‌ها نسبت به خالص کردن آن با روش نوک ریشه یا تک‌اسپور کردن اقدام لازم به عمل آمد و سپس با استفاده از کلیدهای موجود نسبت به شناسایی آن‌ها اقدام گردید (Singleton et al. 1992).

۲-۳- جداسازی سیستم‌های نماتد

باتوجه به وسعت مزارع آبیاری شده با پساب کارخانه در هر منطقه چند مزرعه که نشان‌دهنده وضع کلی منطقه بود انتخاب گردید و نمونه برداری مرکب از آن‌ها انجام پذیرفت. پس از ثبت مشخصات، نمونه‌ها جهت استخراج و بررسی سیستم‌ها به آزمایشگاه منتقل شد.

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 نمونه برداری از قسمت‌های زیرزمینی بوته‌های چغندر قند دارای علائم پوسیدگی و لهیدگی غده، نکروز آوندی و گال و سایر علائم مشکوک به بیماری‌های باکتریایی انجام شد. پس از 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 آب مقطر استریل قرار داده شده و یا در هاون چینی استریل له شده و پس از حدود ۳۰ دقیقه نسبت به مختلط کردن سوسپانسیون حاصل روی محیط NA اقدام گردید. پس از حدود ۳۶ ساعت، پرگنه‌هایی که دارای رشد کندتری بوده و ریز بودند و دارای جمعیت غالب در محیط کشت بودند انتخاب شده و خالص سازی گردید. به منظور اطمینان از رشد باکتری‌های بیماری‌زا، محیط کشت‌ها تا ۱۰ روز در انکوباتور نگاه‌داری و بررسی شد و نسبت به خالص سازی آن‌ها اقدام گردید. پس از اثبات بیماری‌زایی

در این روش برای هر قارچ پنج عدد ریشه سالم و بدون زخم 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. پس از خشک شدن سطح ریشه‌ها، توسط چوب پنبه سوراخ کن ۵ میلی متری در اطراف ریشه چهار حفره به عمق ۶-۵ میلی متر ایجاد شد. برای مایه‌زنی از حاشیه کشت ۷-۳ روزه قارچ یک قطعه پنج میلی متری در سه حفره قرارداد شده. 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 رطوبت نسبی ۳ تا ۷ درصد و در درجه حرارت ۲۳-۱۶ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از ۱۵ روز با اندازه‌گیری میزان پوسیدگی و تغییر رنگ 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 باز یافت قارچ عامل بیماری انجام گردید.

ج) استفاده از روش تستک‌های پتری سترون

در این روش ریشه‌های سالم چغندر قند 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

استخراج سیست‌ها از ۱۰۰ گرم خاک نمونه برداری شده با استفاده از 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 چغندر قند ارقام رسول و شیرین در گلخانه و برش‌های ریشه چغندر قند در آزمایشگاه مایه‌زنی شد. پس از مایه‌زنی عکس‌العمل بوته‌ها و اصول کنخ مورد بررسی قرار گرفت (Goszczyńska et al. 2000; Schaad et al. 2001).

۳-۲- اثبات بیماری‌زایی عوامل قارچی

الف) استفاده از گیاهچه چغندر قند

به منظور اثبات بیماری‌زایی، از بوته‌های سالم چغندر قند ارقام رسول و شیرین رشد یافته در خاک پاستوریزه و عاری از 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

جدایه‌هایی که بیماری‌زایی آن‌ها اثبات گردید با استفاده از کلیدهای مناسب (جهت قارچ‌ها) و آزمون‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی (جهت باکتری‌ها) و تهیه مخروط انتهایی و بررسی 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 شده. درجه حرارت (برحسب سانتی‌گراد)، EC (برحسب μmohs)، pH و تعداد کلنی جدا شده در هر نمونه در سال ۸۴ در جداول ۱ و ۲ مشاهده می‌شود.

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

در مورد شاهد از محیط کشت سترون فاقد قارچ استفاده گردید و سپس تشکی پتری در درجه حرارت 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد به مدت ۷-۱۰ روز نگهداری گردید و سپس میزان نفوذ و نحوه پوسیدگی توسط قارچ ثبت شد و تأثیر قارچ نسبت به شاهد ارزیابی گردید (Singleton et al. 1992).

۴- شناسایی عوامل بیماری‌زا

جدول ۱ مشخصات نمونه‌های پساب کارخانه قند 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 کلنی‌های جدا شده	۱۱۱	۱۰۹	۱۰۶	۱۰۸	۱۰۹	۱۱۴	۱۱۳	۱۱۹	۱۱۶

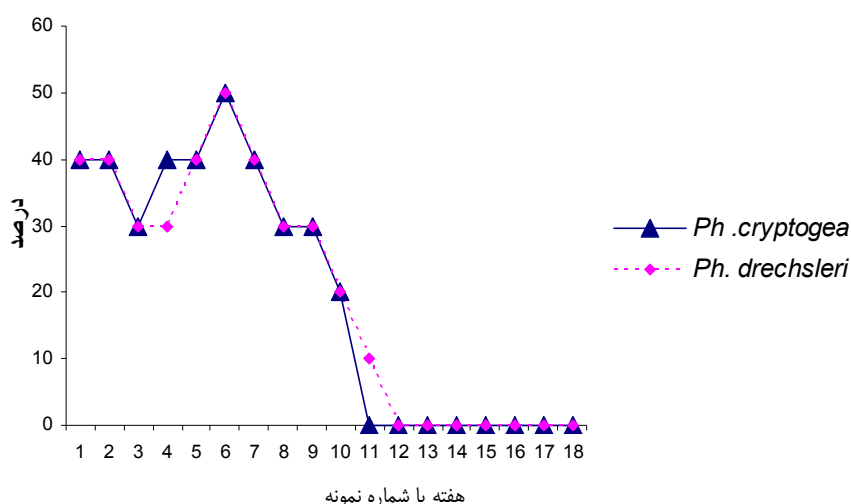
ادامه جدول ۱ مشخصات نمونه‌های پساب

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 کلتی‌های جدا شده	۱۱۶	۱۱۳	۱۲۰	۱۲۴	۱۲۴	۱۳۰	۱۳۶	۱۳۲	۱۳۰

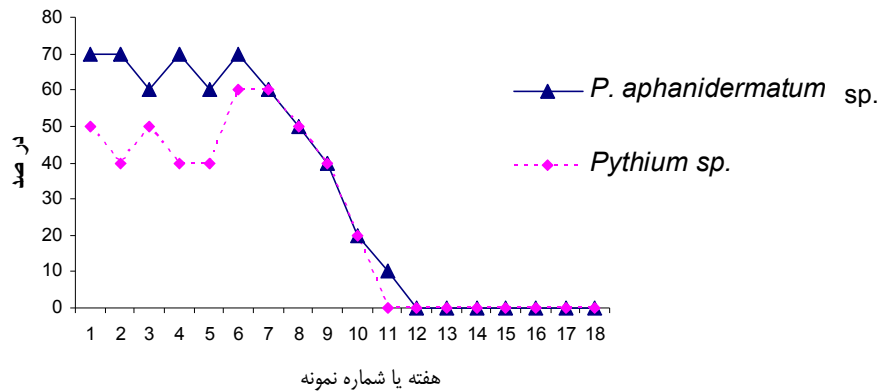
Erwinia caratovora و سیستم‌های نماتد
Heterodera schachtii از پساب جداسازی گردید.
 براساس نتایج حاصل درصد دیسک‌های آلوده
 شده برگ مرکبات توسط قارچ‌های خانواده Pythiaceae
 در هفته‌های اول بیشتر بوده و به تدریج با گذشت زمان و
 نزدیک شدن به هفته‌های آخر تعداد آن‌ها کاهش می‌یابد.
 نتایج حاصل در شکل‌های ۱ و ۲ ارایه شده است.

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.
 و باکتری *Rhizoctonia solani*, *Geotrichum* sp.



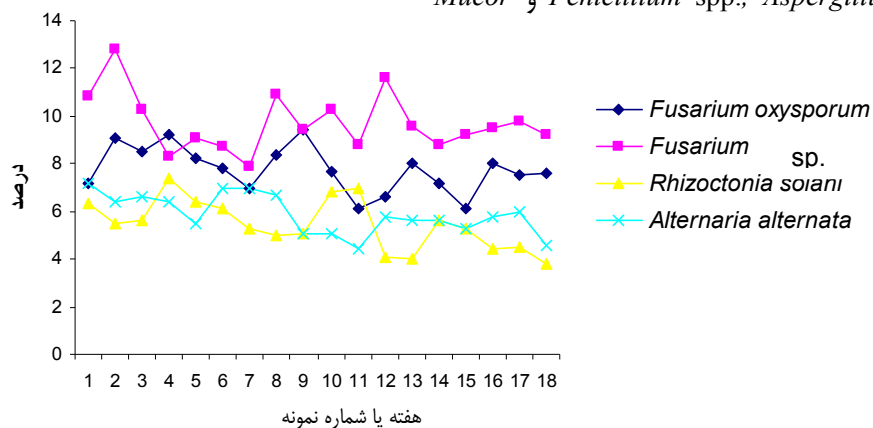
شکل ۱ نمودار درصد دیسک‌های آلوده شده توسط گونه‌های *Phytophthora*



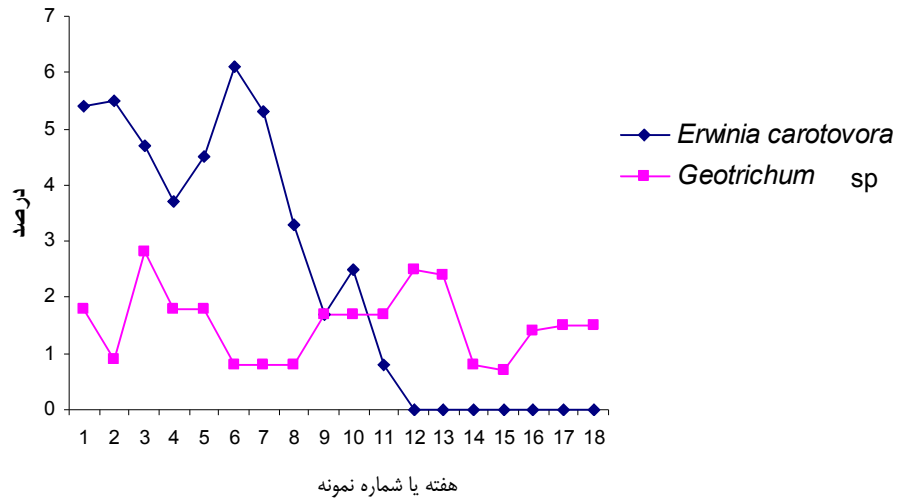
شکل ۲ نمودار درصد دیسک‌های آلوده شده توسط گونه‌های *Phthium*

SP. در طول دوره نمونه‌برداری افزایش یافته و تعداد سیست‌های نماتد *Heterodera schachtii* در دوره نمونه‌برداری متغیر بود. نتایج حاصل به صورت درصد جمعیت پرگنه‌های هر عامل بیماری‌زا در هفته‌های مختلف نمونه‌برداری در شکل‌های ۳، ۴ و ۵ ارایه شده است.

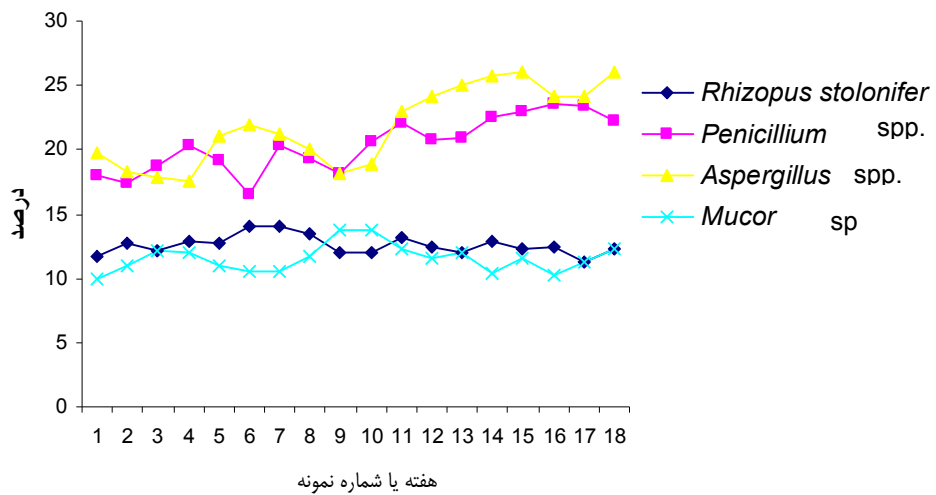
شمارش کلنی‌های رشد کرده بر روی محیط‌های کشت بیان‌گر ثبات نسبی تعداد پرگنه‌های قارچ‌های *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Alternaria alternata* کاهش تعداد پرگنه‌های باکتری *Erwinia carotovora* در دوره نمونه برداری بود. تعداد پرگنه‌های قارچ‌های *Rhizopus stolonifer*, *Geotrichum* sp., *Mucor* و *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp.,



شکل ۳ نمودار فراوانی پرگنه‌های قارچ‌ها در دوره فرآوری در پساب



شکل ۴ نمودار فراوانی پرگنه‌های عوامل بیماری‌زا در دوره فرآوری در پساب



شکل ۵ نمودار فراوانی پرگنه‌های قارچ‌ها در دوره فرآوری در پساب

carotovora باعث پوسیدگی نرم ریشه چغندرقد می‌شود. جمعیت این باکتری نیز با خشک شدن خاک همراه غده‌ها کاهش می‌یابد نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج دیگر محققان در سایر کشورها از جمله 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 و تنوع 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 بیان‌گر جداسازی 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 بقا به رطوبت می‌باشد.

قارچ *Alternaria alternata* یکی از عوامل بیماری‌زا در برگ چغندرقد 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*,

همچنین در نمونه‌برداری از مزارع تحت آبیاری با پساب عوامل بیماری‌زای مختلف از جمله *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp., *Pythium aphanidermatum*, *Pythium* sp., *Phytophthora cryptogea*, *Ph.drechsleri*, *Rhizoctonia solani*, و باکتری *Erwinia carotovora* و سیستم‌های نماتد *Heterodera schachtii* از خاک و ریشه جداسازی گردید. حداکثر تعداد سیستم‌های 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 چغندرقد اثبات گردید.

بحث

براساس نتایج حاصل از بررسی تغییرات جمعیت عوامل بیماری‌زا در پساب کارخانه‌قند بردسیر در دوره فرآوری چغندرقد، 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 اسپور 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 پس از هفته دهم کاهش می‌یابد. باکتری *Erwinia*

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 چغندر قند 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 ناشی از پراکنش این عوامل توسط پساب کارخانه الزامی بوده و بدین منظور می‌توان قبل از ورود پساب به مزارع، حوضچه‌های رسوب جهت ته‌نشین شدن برخی عوامل بیماری‌زا و استفاده از عوامل میکروبی جهت کنترل این عوامل را توصیه نمود. با توجه به نتایج حاصل از بررسی انجام شده توسط هونگ و همکاران (Hong et al. 2003) اضافه نمودن کلر قبل از ورود آب بازیافتی به مزارع در کاهش جمعیت عوامل بیماری‌زا مؤثر است. این روش پس از انجام تحقیقات لازم یکی دیگر از پیشنهادات عملی جهت کاهش جمعیت عوامل بیماری‌زا می‌باشد.

Geotrichum sp., *Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.* و *Mucor sp.* دارای قدرت ساپروفیتی زیادی هستند و به عنوان عوامل خسارت‌زای پس از برداشت در چغندر قند 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 چغندر قند در منطقه، بسته به این که پساب، حاصل از شستشوی چغندرهای مربوط به مزارع آلوده و یا غیر آلوده باشد، تعداد سیست‌های نماتد *Heterodera schachtii* در دوره نمونه‌برداری متغیر بود. در نمونه‌برداری از مزارع تحت آبیاری با پساب عوامل، بیماری‌زای مختلف از جمله *Fusarium oxysporum*, *Fusarium sp.*, *Pythium aphanidermatum*, *Pythium sp.*, *Phytophthora cryptogea*, *Ph. drechsleri*, *Erwinia* و باکتری *Rhizoctonia solani*، و سیست‌های نماتد *carotovora* از خاک و ریشه جداسازی گردید. براساس منابع موجود و بررسی‌های انجام شده توسط ویتنی و دافوس (Whitney and Duffus 1986) تمام این عوامل بیماری‌زا خاکزی بوده و توسط آب آبیاری و خاک منتقل می‌شوند. جداسازی این عوامل از مزارع تحت

References:**منابع مورد استفاده:**

- ارشاد، ج. ۱۳۷۱. گونه‌های فیتوفتورا در ایران (جداسازی - خالص‌سازی - شناسایی). چاپ اول، سازمان تحقیقات کشاورزی، ۲۱۷ صفحه.
- افضلی دشت‌بیاض، ج. ۱۳۷۷. انتشار عامل پوسیدگی فیتوفتورایی ریشه چغندرقد توسط آب‌های جاری کشاورزی حوضه آبخور منطقه مرودشت. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شیراز، ۱۴۷ صفحه.
- برادران، غ. خسروفر، ف. بنی‌هاشمی، ض. ۱۳۷۹. نقش *Phytophthora* در پوسیدگی ریشه چغندرقد 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.
- Goszczyńska 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 pythiaceae species from irrigation water. Phytopathology. 92:610-616.

- 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*. Ministry 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.

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. New York: 76 pp.