بیماریهای ناشی از قارچ Phoma betae Frank درچغندر قندو اهمیت بذر درانتقال آن

از : احمد احمدی نژاد*

مقدمه :

قارچ Phoma betae یکی از عوامل مهم مولدمرگ گیاهچه ، لکه برگی و پوسیدگی ریشه روی انواع چغندر بوده وبعنوان عامل مولد مرگ گیاهچه دارای اهمیت فوق العاده‌ای است بدلیل اهمیت اقتصادی بررسیهای مفصلی روی چغندرقند بعمل آمده ولی این بررسیها درمورد انواع دیگر چغندر هم قابل تعمیم میباشند . این قارچ نیز مانند قارچهای دیگر چون Pythium Spp, Rhizoctonia Solani Kuhn,Fusarium Spp, Aphanomyces Spp. موجب مرگ گیاهچه در چغندر قند میشوند . این قارچ درسراسر دنیا وجود دارد ولی درکشورهای انگلستان ، فرانسه ، چکسلواکی ، قبرس ومالزی دارای اهمیت اقتصادی فراوان تری است (۲ - ۳ - ۵ - ۶ - ۷ - ۸ - ۹- ۱۱- ۱۲).برخلاف قارچهای دیگر مولد گیاهچه که اغلب درخاک باقیمانده و از آن طریق صدمه تولید میکنند دوام قارچ Phoma betae درخاک و باقیمانده گیاه آلوده زیاد نیست وبذر بهترین محل برای بقاء قارچ عامل بیماری است (۳ - ۱۱)

علیرغم اهمیت این قارچ روی چغندر قند در دنیا تاکنون در ایران تحقیقی دراینموردارائه نشده ومخصوصا "ازجهت اهمیت ویژه بذر درانتقال آن معرفی این قارچ و بیماریهای مهم ناشی از آن تحقیقاتی را ضرورت بخشید که خلاصه نتایج آن بدینوسیله عرضه میشود .

درایران این قارچ همراه pythium aphanidermatum (Edson)Fitzp و Rhizoctonia solani بعنوان عوامل مولدمرگ گیاهچه

---

*محقق موسسه بررسی آفات و بیماریهای گیاهی

قبل و بعد از ظهور شناخته و معرفی شده است . همینطور بصورت عامل مولد لکه روی برگها ملاحظه و نشان داده شده است . فعالیت این قارچ بعنوان عامل مولد پوسیدگی ریشه در سیلو و انبار در بعضی نقاط دنیا دارای اهمیت است اما در ایران تاکنون جلب توجه نکرده است (۱)

خلاصه کارهای انجام یافته بدین منظور تحت عناوین زیر از نظر میگذرد .

۱ـ علائم بیماری

۲ـ عامل بیماری

۳ـ روش بررسی

۴ـ بحث و استنتاج

علائم بیماری .

چنانکه در مقدمه اشاره شد این قارچ بعنوان عامل مولد مرگ گیاهچه و لکه برگی روی چغندر قند مورد مطالعه واقع شده است ، لذا علائم هربیماری جداگانه از نظر میگذرد .

الف : علائم بیماری مرگ گیاهچه .

مدتی حدود چهار یا پنج روز پس از جوانه زدن بذر لکه هائی روی هیپوکوتیل گیاهچه ظاهر میشود که ممکن است منجر به مرگ گیاهچه قبل ازظهورگردد (دراین بررسی ها معدودی گیاهچه حاصل از بذر جوانه زده از بین رفتند) گیاهچه ظاهر شده ممکن است درقسمتهای بالای خاک واجد هیپوکوتیل تغییر رنگ یافته باشد ویا دربعضی از گیاهچه ها این تغییر رنگ مشاهده نمیشود . عکس شماره (۱)

عکس شماره ۱ حالات مختلف آلودگی گیاهچه چغندرقند به قارچ Phoma betae

چنانکه در عکس شماره ۱ مشاهده میشود فقط درگیاهچه وسطی هیپوکوتیل دربالای خاک تغییر رنگ داده و در چهار گیاهچه دیگر در قسمت زیرخاک تغییر رنگ هیپوکوتیل دیده میشود. اغلب گیاهچه های آلوده ظاهرا "سالم بنظر میرسند ولی درصورتیکه از زمین خارج شوند در قسمتهای درون خاک تغییر رنگ هیپوکوتیل دیده میشود. قسمت آلوده هیپوکوتیل درخشنده بوده وبرنگ قهوه‌ای تیره تا سیاه خود نمایی میکند. بروز علائم وپیشروی بیماری ناشی از این قارچ ممکن است تا چغندر ۶ تا ۸ برگه ادامه یابد آلودگی این قارچ دراین مرحله اغلب درپوست هیپوکوتیل محدودشده وزیاد

عمیق و دورنی نیست . بدین لحاظ مرگ گیاهچه در اثر این قارچ بـا مقایسه با Pythium Spp خیلی خفیف تر است .

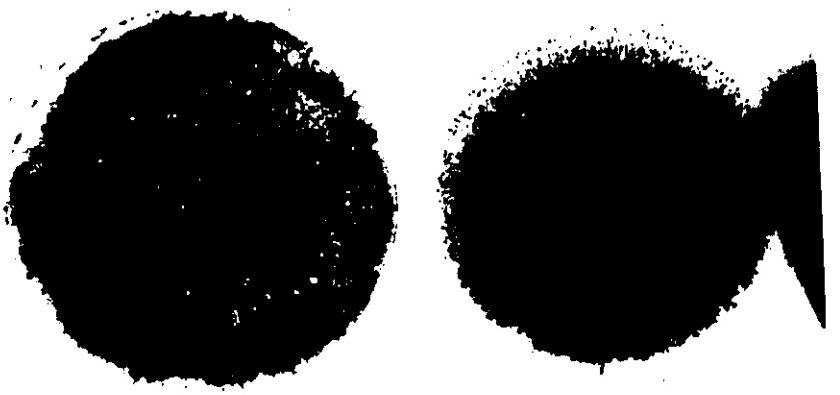
ب : علائم برگـی .

بیشتر اوقات برگهای مسن کناری بوته مورد حمله این قارچ قرار میگیرند . علائم آن ابتداء بصورت لکه های ریز رنگ پریده در سطح برگها ظاهر شده که بتدریج اندازه آنها درشت تر و رنگ آنها تیره شده و قهوه‌ای میشوند . لکه های ریز بهم وصل شده وبصورت نواحی قهوه‌ای درسطح برگها خودنمائی میکنند . سطح این لکه ها ابتـدا یکنواخت میباشد ولی بمرور نوارهای متحدالمرکز تیره و روشن در لکه ها دیده میشود . معمولا" در حاشیه محاور بافت سالم در لکه ها یـک نوار قهوه‌ای تیره رنگ وجود دارد که بلافاصله بعد از آن بافت سالم سبز رنگ برگ قرار دارد (عکس شماره ۲)

عکس شماره ۲ لکه جوان تولید شده توسط قارچ Phoma betae روی برگ چغندر قنـد .

قسمت مرکزی لکه ها بتدریج رنگ روشن تری پیدا کرده وپاره شده ومیریزند درسطح باقیمانده قهوه‌ای رنگ لکه ها ، بتدریج پیکنیدهای قارچ ظاهر میشوند. لازم بتذکر است که ممکن است درهمه شرایط پیکنید بفراوانی تشکیل نشود ولی نوع لکه ورشد قارچ در محیط مرطوب و محیطهای کشت وجود آنرا مشخص میسازد. (عکس شماره ۳)

درصورت تولید بذر درمحیط مساعد از نظر رطوبت لکه‌های مربوطه روی برگهای مسن کناری تشکیل شده وبارشدبوته این لکه ها هم‌درشت و فراوان تر میشوند وموقع بذردهی بوته ها رشد وتکثیر سریع تر شده وهمه بوته را فرا میگیرند .



عکس شماره ۳کلنی قارچ Phoma betae درمحیط کشت PDA

در چنین شرایطی میزان تولید بذر خیلی کم شده و تقریبا " تمام بذر چنین بوته هائی به این قارچ آلوده میشوند . بدیهی است این حالت در صورت مرطوب بودن شدید محیط عارض میگردد . درکشورما خوشبختانه تولید بذر درمحلی است که رطوبت لازم برای آلودگی شدید فراهم نیست

عامل بیماری

عامل این بیماری قارچی است بنام :

الف : فرم غیر جنسی

Phoma betae 1892

ب : فرم جنسی

Pleospora betae Bjorling

Pleospora bjorlingii Byford

چنانکه ملاحظه میشود حالت جنسی این قارچ دیده شده وازجنس Pleospora میباشد این کاردرسال۱۹۴۴در سوئد توسط Bjorling انجام و Pleospora betae نامیده شده است بعدا " درانگلستان هم حالت جنسی ملاحظه و توسط Byford اسم آن تغییر کرده و Pleospora bjorlingii نامیده شده است

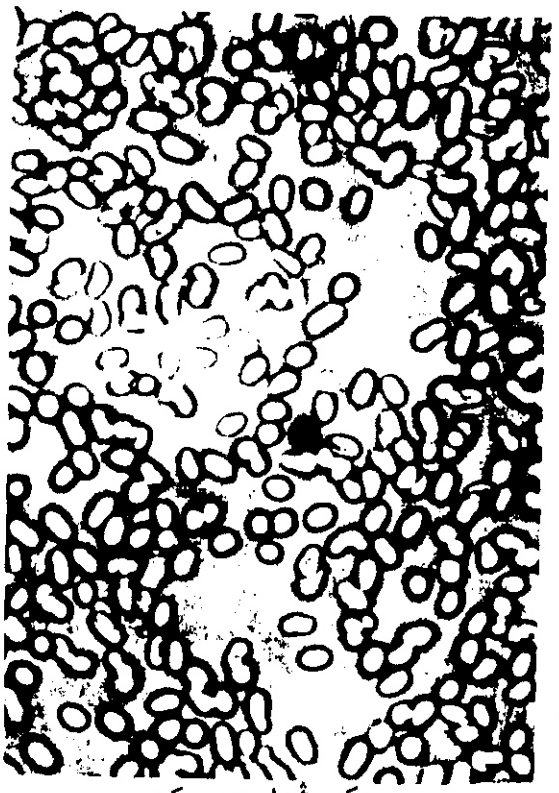
درایران تاکنون حالت جنسی مشاهده نشده است ، لذا مشخصات حالت غیر جنسی قارچ از نظر میگذرد .

* *

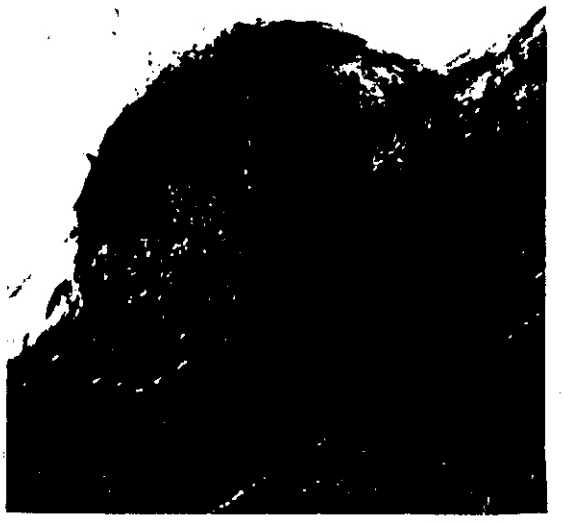
* * برای اطلاعات بیشتری در زمینه عامل بیماری توصیه میشود به C.M.I.Description of pathogenic Fungi &Bacteria No.149 مراجعه شود .

قطر پیکنید ها ۱۵۰ ـ ۲۰۰ میکرون و ارتفاع آنها ۲۰۰ـ ۲۳۰ میکرون (عکس شماره ۴)

پیکنیوسپورها بی رنگ ، تخم مرغی یا تقریبا " کروی بوده‌وابعاد آنها ۴-۳ × ۸-۵ میکرون میباشد (عکس شماره ۵)



عکس شماره ۵ پیکنیوسپور های قارچ
Phoma betae 500x



عکس شماره ۴ پیکنیدقارچ
Phoma betae 200x

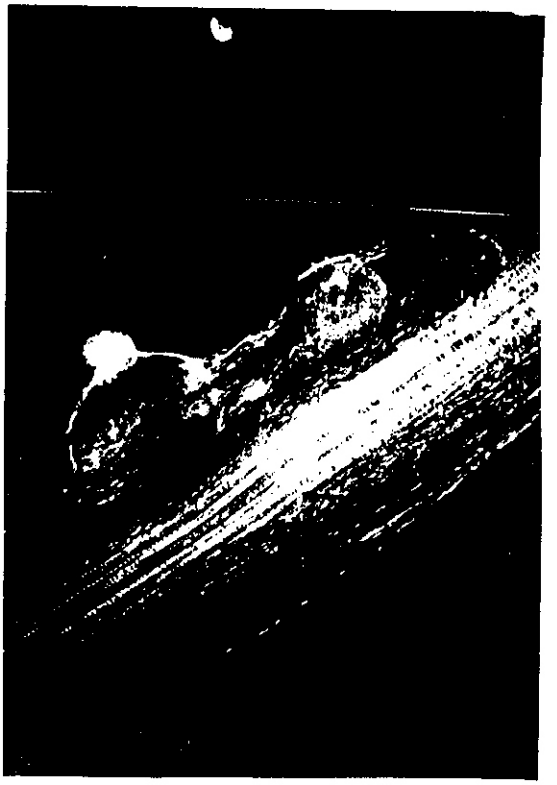
روش بررسی .

بمنظور جداکردن و تشخیص این قارچ ازاندامهای آلوده وبذر از محیط کشت PDAروش بلوتر وآب آگار (روش منگان) استفاده بعمل آمد.

علائم حاصله بعنوان مولد مرگ گیاهچه مشهود و بیماریزایی آن بصورت عامل مولد لکه برگی به ثبوت رسیده که شرح روشهای مورد عمل بقرار زیر است . درمورد ارزیابی روشها چون کار بود بذر راحت و عملی تر بوده از ۶ رقم بذراستفاده شد و درمواقع لزوم از نسج آلوده هم بروشهای مختلف کشت گردید و نتایج حاصل از آزمایش بذر تائید شد .

الف : روش بلوتر (Blotter Method) استفاده از کاغذ صافی استریل شده ،ازمدتها پیش با مرطوب نمودن کاغذ فوق شرایط مساعد برای شروع فعالیت و رشد بیشتر قارچها تاءمین میشده است بدین منظور سه ورقه کاغذ صافی آزمایشگاه (Blotter) بقطر ۹ سانتیمتر را تا حداشباع خیس نموده دوون تشتک پتری قرار میدهیم .

سپس تعداد معینی بذر (دراین مورد ده عدد) را روی این کاغذ درون پتری بارعایت فواصل لازم قرار داده و برای مدتی حدود هشت روز در حرارت ۱+ ۲۰ درجه سانتیگراد در سیکل نوری ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت نور نزدیک به ماوراء بنفش (N,U,V) نگهمیداریم . بعد از این مدت توسط ذره بین دوچشمی مخصوص موسوم به بین اکولر با بزرگنمائی ۳۰ تا ۶۰ پیکنید های تشکیل یافته قارچ روی بذر و هیپوکوتیل گیاهچه ملاحظه و یادداشت شده معدل میزان آلودگی مجموع بذر های آلوده برای هرنمونه تعیین شده است . از هر نمونه بذر دویست عدد مورد آزمایش واقع شده است . روی گیاهچه ممکن است پیکنیدها باندازه و سنین مختلف تشکیل و ملاحظه گردد . عکس های ۶ و ۷



عکس شماره ۶ پیکنیدهای قارچ
100 x Phoma betae

گیاهچه چغندر قند

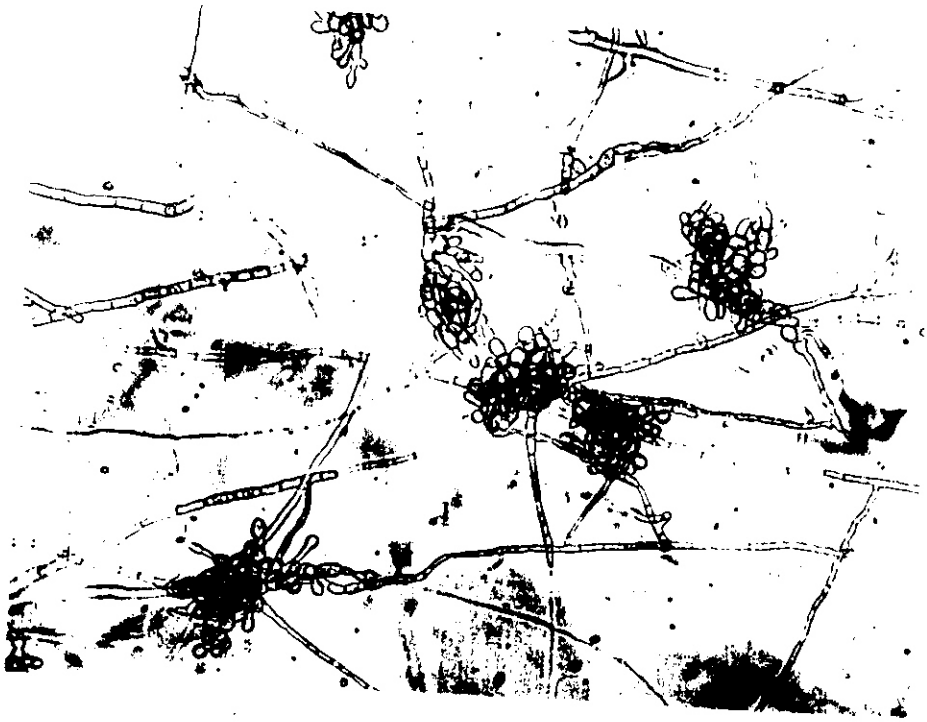
عکس شماره ۷ پیکنیدوپیکنیو
سپورهای قارچ منتقل شده از
روی بذر 100 x

درمواقع مخصوص میتوان دوره رشد بذر را ۲ تا ۳ هفته برای مشاهده پیکنید قارچ اضافه نمود . این زمان اضافه در صورت عدم دسترسی به سیکل تاریک و روشن میتواند در توسعه و تکمیل پیکنیدها کمک نماید .

ب : روش استفاده از محیط کشت (PDA) بدین منظور محیط کشت PDA (Difco Compound) باندازه توصیه شده توسط کارخانه سازنده (۳۹ گرم در هرلیتر آب) و بمیزان ۱۵ - سانتیمتر مکعب درون هرتشتک پتری ریخته شد .

بذر چغندر پلی ژرم را بمدت ۱۰ دقیقه درون محلول هیپوکلریت سدیم ۱ در صد ضد عفونی و در هرتشتک پتری ده عدد بذر قرار داده و بمدت ۵ روز پتریها را در حرارت ۲ ± ۲۰ درجه سانتیگراد و سیکلنوری مذکور در روش بلوتر قرار داده تا سبز شوند بعد از این مدت کلینهای مملو از پیکنید قارچ حاصله توسط هربذر شمارش و ملاک مقایسه قرار گرفت (عکس شماره ۳)

ج : روش استفاده از آب آگار (روش منگان) ۱- دراین روش ۱۵سانتیمتر مکعب محلول ۱/۵ درصد آگار درون هرپتری ریخته شد. بذر چغندر بهمان روشی که برای PDAگفته شد پس از ضد عفونی سطحی روی آگار درپتری کشت گردید و پتریها را برای مدت ۵ روز درهمان شرایط مذکور برای P.D.A نگهداری گردید پس از این مدت دراثر تماس یسلیوم قارچ با کف پتری هیفهای (Hyphe) قارچ تورم حاصل نموده و اشکال مخصوصی بنام Holdfast structure تولید مینمایند که ملاک سنجش میباشد (عکس شماره ۸)



عکس شماره ۸ نمونه Holdfast structure تشکیل یافته توسط Phoma betae درمحیط آب‌آگار 200x

بمنظور مشاهده بافت مخصوص تورم (هیفها) پتری را معکوس زیر میکروسکپ قرار داده و پس‌از تنظیم با بزرگنمائی حدود ۶۰ دراطراف هربذر بافتمخصوص مشاهده و یادداشت میگردد. مسئله قابل تذکر دراینمورد اینستکه بافت مخصوص چهل وهشت ساعت پس‌از کشت بذردرپتری حاوی آب‌آگار ظاهر شده و قابل ملاحظه‌است. کشت در پتری در سیستم تاریک و روشنائی مانند آنچه انجام شده و یانور یاتاریکی پیوسته و دائم از نظر تشکیل این بافت بی تاءثیر است. بغیرازقارچ Phoma betae تاکنون هیچ قارچ دیگری چنین بافتی را تحت‌این شرایط تولید نکرده‌است دراین روش تعدادی پیکنیدهم تشکیل میشود ولی ملاک سنجش همان بافت مخصوص خواهد بود.

دراثر پیرشدن ویاصدمه ناشی ازباکتریها ممکن است بافت مخصوص تغییر شکل داده یا تیره و سیاه شود ولی باکسب تجربه این موارد ـ قابل تمیز خواهند بود .

د : مشاهده علائم بیماری روی گیاهچه .

بمنظور مشاهده علائم و انتقال بیماری از طریق بذر تعدادی از آلوده ترین رقم بذر (شماره ۷۷۰۱) درون گلدانهای واحد خاک بـــرگ استریل در گلخانه باحرارت ۲ ± ۲۰ درجه سانتیگراد و نور مصنوعـــی شبیه نور خورشید کاشته شده و نگهداری گردید . پس از ظهور گیاهچـه روی بعضی از آنها علائم بیماری ملاحظه شد (عکس شماره ۱)

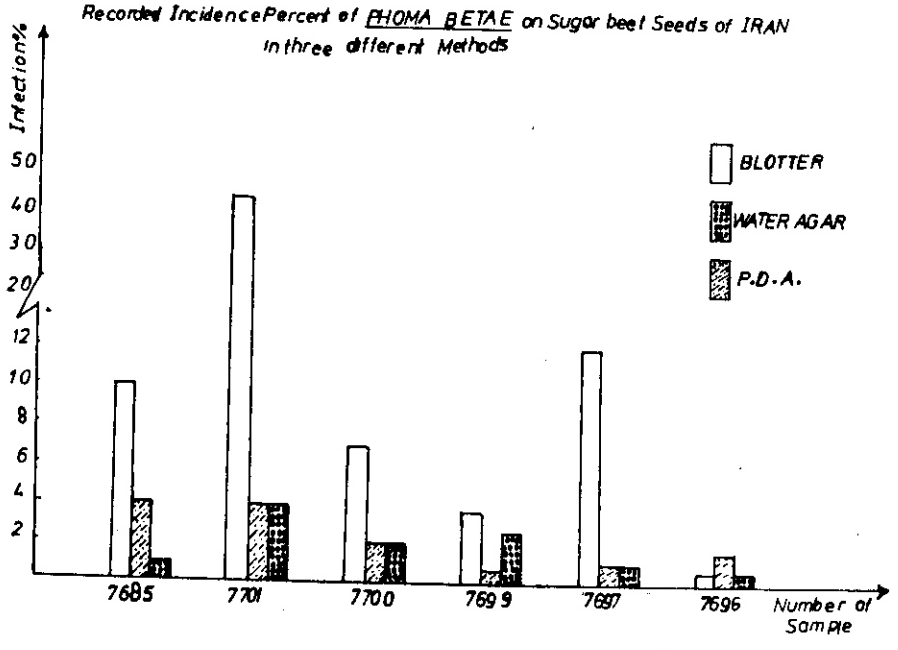
هـ : ثبوت بیماریزائی قارچ بعنوان مولد لکه برگی .

درمنطقه خوزستان این قارچ بصورت عامل مولد لکه برگی روی‌چغندر قند خودنمائی میکنند . نمونه‌ای از منطقه مذکور روی محیطکشت P.D.A رشد داده شد و پس‌از رشد کامل و پوشیده شدن سطح پتری از پکنیـــــد دمیلیوم قارچ ، محتوی چهار پتری توسط آسیاب مخصوص خورد شده با آب مقطر استریل اختلاط و رقیق سازی بعمل آمد . محلول حاصل از صافی استر یل عبور داده شد و محلولی از پیکنیو سپرهای قارچ بدست‌آمد. این محلـول توسط محلولپاشی روی قسمتهای هوایی بوته های جوان که چهار هفته ازسبز شدن آنها میگذشت پاشیده شد. برای مدت بیست وچهار ساعت جهت تاء میـــن رطوبت اشباع ، بوته ها با پوشش پلاستیکی پوشیده شدند . علائم بیماری دو هفته پس‌از محلول پاشی روی برگهای کناری بوته‌ها ظاهر شد که عینا "ـ شبیه علائم موجود در طبیعت بودند (عکس شماره ۲) .

از برگهای واجد لکه ، قارچ تلقیح شده بدست‌آمـــد .

بحث و استنتاج :

۱ـ درمقایسه روشهای سه گانه که بمنظور تشخیص و تعیین میزان آلودگی بکار رفته است در ۶ رقم بذر آلوده چنانکه در نمودار مربوطه ملاحظه میشود (عکس شماره ۹) روش بلوتر از نظر بالا بردن میـــزان آلودگی نسبت به دو روش دیگر مفید تربوده و میزان



عکس شماره ۹ نمودار مقایسه ای میزان آلودگی چند رقم بذر در روشهای مختلف .

آلودگی را خیلی زیاد ترنشان میدهد . برای مثال در بذر شماره ۷۷۰۱ میزان آلودگی در روش بلوتر ۴۷ و در دوروش دیگر هرکدام ۴ درصد بدست آمده است ، بدیهی است عامل اصلی این وضعیت ضد عفونی سطحی است که در روشهای واجد آگار انجام شده است زیرا با توجه باینکه آلودگی سطحی بذر باین قارچ زیاد است درضد عفونی سطحی جمعیت قارچ بنحو بارزی نقصان حاصل مینماید . بدیهی است چنانکه بذر ضد عفونی نشود میزان آلودگی در هریک از دوروش دیگر هم بالا خواهد بود . برای مثال دربررسیهای بعمل آمده روی بذرهای خارجی که بطور غیر پیوسته دریک همکاری بین المللی توسط نگارنده بعمل آمده روش آب آگار با بذر بدون ضد عفونی میزان آلودگی را تابیش از ۹۰ درصد نشان داده است اخیرا " دررو ش آب آگار اولا" ضد عفونی بذر حذف شده ثانیا " بمنظور جلوگیری از جوانه زدن بذر و تولید گیاهچه توسط بذر ازعلفکش 2-4-D به نسبت 50 ppm با محلول آب آگار مخلوط میشود . اینکار ضمن این فایده که اشکال حذف گیاهچه را موقع بازدید از بین میبرد واجد این عیب است که مشاهده نمونه های تی پیک پیکنید قارچ را که گاهی روی چنین گیاهچه‌ای تشکیل میشوند حذف مینمایند با این وصف چنانچه بذر ضد عفونی نشود میزان آلودگی درهریک از دوروش دیگر هم بالاخواهد بود .

درمورد استفاده از محیط کشت PDA بعلت مغذی بودن و مساعدت - شرایط کشت برای رشد قارچهای دیگر در صورت عدم ضد عفونی سطحی قارچهای دیگر روی بذر که اغلب غیر پارازیت هستند ممکن است رشد قارچ فوما را تحت الشعاع قرار داده و با محدودکردن آن در صورت بررسی مقایسه‌ای بذر میزان آلودگی خیلی کمتراز آنچه موجوداست بدست آید. ولی با استفاده

ازروش آب آگار بدون ضد عفونی سطحی میتوان از خطر آلودگی سایر قارچها درامان بود و میزان آلودگی به قارچ فوما را تقریبا "دقیق بدست آورد . زیرا اولا بدلیل نبودن ماده غذائی کراوان درآگار رشد بقیه قارچها زیاد نیست ثانیا " باوجودیکه پیکنیدهای اولیه هم درون آب آگار درست میشوند ولی ملاک سنجش همان بافت های مخصوصی موسوم به Holdfast structures است که اختصاصا " به قارچ Phoma betae مربوط است نه هیچ قارچ دیگر (۲) .

با مشاهدات وتجربیات بعمل آمده درابنمورد چنین میتوان استنباط و توصیه نمود . در صورتیکه منحصرا " میزان آلودگی قارچ Phoma betae مورد نظر باشدروش آب آگار بهتر و عملی تراست . اما بررسیهای کلی بذر و نسج آلوده روش بلوتر میتواند یک روش مطلوب باشد . مخصوصا چنانچه میزان آلودگی به قارچ Cercospora beticola sacc. لازم باشد و آشنائی بقدری باشد که قارچهای پرجمعیت چون Alternaria Spp نتوانند اشکالی درمشاهده پیکنیدهای قارچ تولید نمایندروش بلوتر مطلوب است لازم بتذکر است که تشکیل پیکنید روی بذرو گیاهچه حاصل آن درمحیط بلوتر دراغلب موارد مخصوصا "درسیکل نوری بکار رفته دراین آزمایش کاملا" قطعی و قابل اطمینان است امـا نسج آلوده احتمالا" به قارچ Phoma betae ممکن است در هـر شرایطی درمحیط بلوتر بسرعت پیکنید تولید ننماید که این امر هم با مختصر تجربه و تعویض فاکتورهای فیزیکی چون نور حرارت واحیانـا " رطوبت توسط محققین مربوطه قابل کاوش و تشخیص است . طبق بررسی هـای Detempe (1968) ((10)Neergard) میزان آلودگی حاصل از روش PDA (ضد عفونی بذر) با میزان مـرگ

گیاهچه حاصل از کاشت بذر درخاک گلخانه و درحرارت ۱۵ درجه سانتیگراد نزدیک است و درموارد مخصوصی این روش توصیه میشود ((این بررسی قبل از کار برد روش آب‌آگار بعمل آمده و نتیجه گیری شده لذا با آب‌آگار هم بررسی مقایسه‌ای لازم بنظر میرسد)) (نگارنده)

۲- در صورت وجود چند قارچ چون Rhizoctonia Solani, Pythium Spp, Fusarium Spp, Phytophthora drchsleri درنمونه های بیمار چغندر اغلب جداکردن قارچ Phoma betae بدلیل تحت تاءثیر سایر قارچها قرار گرفتن با اشکال مواجه میشود. طبق این بررسی و تحقیقات بعمل آمده قبلی میتوان چنین اظهار نظر نمود که درایران قارچ Pythium aphanidermatum بعنوان عوامل Phoma betae, Rhizoctoni solani مهم مرگ گیاهچه و R.solani, Phytophtha drechsleri بعنوان عوامل سهم پوسیدگی ریشه شناخته شده‌اند قارچ Pythium aphanidermatum بیشتر بصورت عامل مولد مرگ گیاهچه قبل از ظهور عمل کرده و حدود چند هفته پس از ظهور گیاهچه با دوقارچ دیگر رقابت دارد . دراین موارد رشد سریع آن درمحیط های کشت PDA و یا CMA آنرا از دو قارچ دیگر متمایز میسازد قارچ R.Solani هم با روشهای کشت درمحیطهای مغذی و محیط بلوتر قابل جدا سازی است چنانچه قارچ Phoma betae در بلوتر و محیط کشت باندازه قابل تشخیص رشد نکرد و پیکنید تولید ننمود میتوان از محیط آب‌آگار برای تشخیص قطعی آن بهره گرفت .

۴ـ با توجه به بیولوژی قارچ Phoma betae که برای تشکیل و استقرار روی بذر (تنها منبع مهم دوام و بقاء آن) احتیاج به رطوبت زیاد در اواخر فصل قبل و موقع برداشت و خرمنکوبی بذر دارد و این شرایط در اکثر نقاط اروپا که از نظر تولید و صادر کنندگان مهم بذر میباشند تاءمین است ، لذا این کشور ها برای ـ تاءمین بذر بدون آلودگی و یا با آلودگی خفیف تر ناچارند با تحمل مخارج نسبتا " سنگین بذر مورد نیاز خود را درنقاط مختلف دنیا تهیه کنند . از آنجائیکه شرایط ایران درنقاطی که کشت چغندر و تهیه بذر آن متداول است برای استقرار و توسعه این قارچ و قارچ بذر زاد مهم دیگر Cercospora beticola فراهم نیست بذر تر تولید شده در ایران ازاین جهت نسبت به بذرهای خارجی مناسب و کم خرج تهیه میشود لذا توصیه میشود در صورت تاءمین سایر امکانات و بررسی جنبه های فنی دیگر میتوان تولید بذرچغندر قند را درکشور توسعه داده وبا بازاریابی مناسب جنبه صادراتی برای این بذر برقرار نمود مخصوصا " اینکه امکانات بنگاه اصلاح و تهیه بذرچغندرقند از نظر وسایل و پرسنل فنی متخصص ممکن است اقدام درچنین جهتی را مقدور سازد که دراین صورت قدمی است بس ارزنده در راه قطع وابستگی کشاورزی و تاءمین خود کفائی .

Diseases Caused by Phoma betae on Sugar Beet and the Importance of the seed as its Transmitter

Phoma betae Frank can be cause of important diseases as:Black leg, Damping-off,Leaf-spot and Root-rot on sugar beet. These diseases have been observed almost all over the world. In Iran because of unfavorable conditions for the pathogen and favorable for the plants there are not serious damages of this pathogen.Phoma betae is not as soil inhabiting fungus.It does not survive very long time in the soil after the host material becomes decomposed.Therfore the probability of infection from the soil is very remote. The fungus is seed-borne and remains alive in the seed as long as the seeds remain viable.It survive in the seed at least for 5 years.So,the source of this disease is in the seed not in the soil.

The amount of seed infection and transmission of Phoma betae in sugar beet seed is also highly depended on the precipitation during growing period of mother plant.In Iran where we produce sugar beet seed there is not enough precipitation and rainfall for Phoma infection of the seed. Because of this advantage the amount of Iranian sugar beet seed infection is very low and enough seedling stands can easily be obtained.

Different methods have been used by investigators for

detection of the pathogen on seed as well as soil and plant parts. One of the method being used is Mangan wate Agar method which considered by many seed pathologists are the most appropriate procedure .

In our investigation this method was quite satisfactory Blotter method which needs less time and labour had also enough counts of fimgus even more thanMangans W.A.due to non use of surface disinfctant in Blotter method .

I can say : In routine and non comparative seed health tests, whenever other seed fungi need to be recorded the Blotter method to be used, whin there is a need to have an accurate record of phoma betae Mangans water Agar Which recently has been modified will be replaced .