نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۵، شماره ۱، بهار ۱۳۹۰، ص. ۲۹-۲۱

Journal of Plant Protection
Vol. 25, No. 1, Spring 2011, P. 21-29

# شناسائی گونه های پیتیوم و بررسی بیماریزائی آنها روی صیفی جات در استان خراسان رضوی

سمانه عسکری فرسنگی[۱] – حمید روحانی[۲]- ماهرخ فلاحتی رستگار [۳]– عصمت مهدیخانی مقدم[٤]- عباس مکرم حصار [۵*]

تاریخ دریافت: ۸۸/۲/۲۸
تاریخ پذیرش: ۸۹/۲/۲۲

## چکیده

یکی از عوامل مهم پوسیدگی بذر، ریشه، طوقه، مرگ گیاهچه، و بوته میری صیفی جات گونه های مختلف *Pythium* می‌باشد. به منظور شناسایی این گونه ها و ارزیابی بیماریزایی آنها روی تعدادی از صیفی جات، نمونه برداری هائی از خاک و بوته های بیمار تعدادی از مزارع خیار، گوجه‌فرنگی، کدو، بادمجان، طالبی، خربزه و هندوانه در مناطق مشهد، چناران، قوچان، فریمان، تربت‌جام، گناباد، کاشمر، خواف، نیشابور، سبزوار، تربت‌حیدریه، کلات، درگز، سرخس و تایباد طی فصل زراعی ۸۶ ـ ۸۵ به صورت تصادفی به عمل آمد. از نمونه های جمع آوری شده در مجموع ۶۰ جدایه *Pythium* جدا وخالص‌سازی شد. سپس براساس خصوصیات ریخت‌شناسی و میکرومتری مورد بررسی تاکسونومیکی قرار گرفتند. فراوانی نسبی گونه های شناسایی شده شامل ۴۶/۴۴ درصد *P. ultimum* var. *ultimum*، ۱۶/۶۶ درصد *P. aphanidermatum*، ۱۳/۳۳ درصد *P. amasculinum*، ۱۰ درصد *Pythium* Group HS، ۶/۶۶ درصد *P. oliganderum*، ۳/۳۳ درصد *P. paroecandrum* و۳/۳۳ درصد *P. echinulatum* بود، از بین انها گونه *P . amasculinum*، *P. echinulatum* و *P. paroecandrum* برای ایران جدید می‌باشند. آرایه های *P. ultimum var. ultimum*، *Pythium* Group HS و *P. oliganderum* برای اولین بار از روی صیفی‌جات گزارش می‌شود. مطالعات بیماریزایی جدایه‌ها در شرایط گلخانه‌ای بر روی تعدادی از صیفی‌جات نشان داد که گونه های *P. ultimum* var. *ultimum*، *Pythium* Group HS. , *P.paroecandrum* *P.aphanidermatum* و *P. echinulatum* روی گوجه فرنگی، خیار، کدو، خربزه، طالبی، هندوانه و بادمجان بیماری‌زا می‌باشند. اما *P. amasculinum* روی کدو بیماریزا نبود.

**واژه های کلیدی**: *Pythium*، صیفی جات، پوسیدگی ریشه و طوقه، مرگ گیاهچه، بیماریزایی

## مقدمه

پوسیدگی اندام های زیر زمینی و مرگ گیاهچه از جمله بیماریهای پر خسارت با گسترش جهانی می باشد (۱۷)، این بیماری در بیشتر مناطق سرد، گرم، معتدل و همچنین گلخانه ها و کشت‌های زیر پلاستیک شیوع دارد. علاوه بر صیفی جات محصولات دیگری مثل سبزیجات، گیاهان زینتی، غلات، درختان میوه وجنگلی نیز به این بیماری دچار میشوند (۲۲، ۳۱). یکی از عوامل مهم این بیماریها گونه های *Pythium* می‌باشد. تا کنون بیش از ۲۰۰ گونه *Pythium* شناسایی شده است (۳، ۲۹) ، ارشاد و مستوفی (۱۳۴۸) ذکر کردند که بوته میری یا پوسیدگی ریشه جالیز اولین بار در سال ۱۳۲۳ به وسیله قوام الدین شریف در اصفهان روی خربزه دیده شده که خیلی قبل از آن هم وجود داشته است. بیماری بوته میری در کلیه نقاط کشور انتشار داشته است. علوی (۲) خسارت بیماری را ۲۵- ۲۰ درصد محصول تخمین زده است. در اصفهان در زراعت بهاره و کرتی خسارت بوته میری و پوسیدگی ریشه را حتی تا ۱۰۰درصد کل بوته های مزرعه نیز برآورد کرده اند. وزیری (۱)، *Pythium sp.* را در منطقه دزفول، ارشاد ۱۳۶۶، رحیمیان و بنی هاشمی ۱۳۶۸ *Pythium aphanidermatum* را در مناطق کرمان، هرمزگان و بید زرد از روی بوته های بادمجان جدا کردند. تعدادی از آنها در اروپا، امریکا، ایسلند، کانادا، ایران و چین برروی صیفی جاتی مثل هندوانه، خربزه، کدو، کدو تنبل، گوجه، خیار و.... باعث ایجاد بیماری می شوند (۱۶،۳۵). قسمت اعظم خسارت به بذور و گیاهچه‌ها به هنگام جوانه زدن و یا قبل از خروج از خاک وارد می شود و باعث مرگ گیاهچه می شود (۹، ۱۰). قسمتهای مورد حمله معمولاً محدود به نواحی مریستم ، اپیدرم، پوست ریشه و میوه‌ها می‌باشد (۲۰). خسارت وارده بسته به گونه ی گیاه، گونه ی قارچ، درجه حرارت، و میزان رطوبت

۱ و ۵- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*-نویسنده مسئول: Email: abasmokaram@gmail.com)
۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانشیار، استاد و استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

خاک متغیر است (۲۸، ۳۲). با توجه به سطح کشت بالای صیفی جات در استان خراسان رضوی و خسارتی که هر ساله در اثر مرگ گیاهچه و پوسیدگی ریشه در اثر قارچ *Pythium* به این محصولات وارد می شود، لازم بود که گونه های این قارچ شناسایی و اهمیت هر کدام از نظر قابلیت بیماریزایی تعیین شود تا بتوان به نحو بهتری نسبت به کنترل آنها اقدام کرد.

## مواد و روش‌ها

### جداسازی، خالص سازی و نگهداری قارچ عامل بیماری

نمونه برداری از ریشه و خاک مزارع خیار، گوجه فرنگی، بادمجان، کدو، هندوانه، طالبی وخربزه از اواخر اردیبهشت تا اواسط مرداد ماه در سال زراعی ۸۶-۸۵ انجام شد. محل نمونه برداری محدود به مناطق مختلف استان خراسان رضوی شامل شهرهای مشهد، قوچان، چناران، کاشمر، تربت جام، فریمان، تربت حیدریه، سرخس، گناباد، خواف درگز و کلات بود. نمونه برداری ها به صورت تصادفی و اغلب از مزارع اطراف جاده بود. برای اینکار از هر مزرعه بسته هایی به اندازه ۱۰۰ گرم از خاک منطقه ریشه و ریشه های مشکوک به پوسیدگی از خاک بیرون اورده شد و در پاکت‌های پلاستیکی تمیز برای بررسیهای بعدی به آزمایشگاه برده شد. برای هر مزرعه ۵ تا ۶ بسته انتخاب شد که درهنگام جدا سازی قارچ با یکدیگر مخلوط شدند.

جداسازی پیتیوم از ریشه وخاک از مرز نواحی سالم و آلوده و یا مستقیما از ریشه،طوقه و چند سانتی متری بالای طوقه که تغییر رنگ داده بودند، قطعات ۵-۳ میلی متری تهیه شد و ۳ بار با آب مقطر سترون به مدت ۱ دقیقه شستشو داده شد، قطعات بدست آمده بر روی کاغذ صافی و در زیر هود خشک گردید و تحت شرایط سترون به محیط کشت CMA منتقل شد. تشتک پتری ها در دو دمای۱۵ و ۲۵ $^{0}$C نگهداری شدند.

جداسازی پیتیوم از خاک با استفاده از روش دیسک زدن صورت گرفت (۱۱). برای این منظور از محیط های کشت Singleton (۳۶)، Davet (۹) ، CMA[1](۸) و آب آگار استفاده شد. بعد از اینکه دمای محیط های کشت به حدود ۵۰ $^{0}$C رسید به میزان ۲۰ میلی گرم پیمارسین ، ۲۰میلی گرم پنی سیلین، ۵ میلی گرم سولفات استرپتومایسین و۵ میلی گرم بنومیل به هر لیتر از محیط های کشت به استثنای آب اگار اضافه گردید (۴ ، ۸). در هر دو مورد بعد از ۲ الی ۳ روز که قطر پرگنه به حدود ۵ سانتیمتر رسید خالص سازی قارچ به روش نوک هیف کردن انجام شد.

### شناسایی گونه‌های پیتیوم

شناسائی جدایه ها بر اساس مشخصات ریخت شناسی (مورفولوژیک) و اندازه گیری قسمت های مختلف جدایه ها (مورفومتریک) شامل اندامهای رویشی و تولید مثلی بخصوص آنتریدیوم،اووگونیوم واسپورانژیوم صورت پذیرفت. برای تحریک قارچ به تولیدارگانهای تولید مثلی از محیط های کشت شاهدانه آگار (Hemp Seed Agar ) (۷، ۳۰)، سیب زمینی هویج آگار (PCA )۲ (۳۷)، ذرت آگار CMA، و محیط کشت با استفاده از آب راکد در گودال ها (۱۲) استفاده شد.

جدایه هائی که نتوانستند در محیط های کشت ذکر شده تولید اندامهای جنسی و غیر جنسی نمایند ، به محیط کشت CMA و PCA حاوی ۱۰۰میلی گرم کلسترول انتقال داده شدند. برای تهیه این محیط کشت ml ۱ اتر با یک قطره توئین۲۰ در یک لوله آزمایش بخوبی مخلوط شد و با ۲۰ میلی لیتر محیط کشت در هر تشتک پتری قبل از سرد شدن مخلوط گردید (۱۳، ۱۸، ۴۱).

### آزمون بیماریزایی

برای تهیه مایه تلقیح قارچ جهت انجام آزمون های بیماریزائی نمونه‌ها روی محیط PDA کشت داده شدند و به مدت ۷ روز در دمای ۲۵$^{0}$C نگهداری گردیدند. مخلوطی از خاک گلدان، پیت، و پرلیت به نسبت (۲:۲:۱ ) دوبار به فاصله ۲۴ ساعت و هر بار به مدت ۱ ساعت اتوکلاو شد. بعد از ۷ روز، که نمونه های قارچ به خوبی سطح پتری را پوشاندند، محتویات هر پتری دیش به قطعات حدود ۰/۵mm × ۰/۵ بریده شدند و به نسبت دو پتری دیش به هر پاکت سلوفانی حاوی ۵۰۰ گرم خاک تهیه شده منتقل گردیدند و پس از مخلوط کردن بین ظروفی که برای کشت بذور تهیه شده بودند تقسیم شدند. بذور خیار رقم Net weight فرانسه ( service plus )، هندوانه رقم Charleston Grey ایتالیا ،گوجه فرنگی رقم Early urbana ایتالیا، خربزه رقم بومی خاتون، بادمجان رقم lang purple B فرانسه وکدو رقم Esma بعد از ضدعفونی در عمق حدود ۲ سانتیمتری خاک کاشته شدند. برای هر نمونه ۴ تکرار و ۲شاهد در نظر گرفته شد. ارزیابی بیماریزایی جدایه های قارچی براساس تعداد بوته های از بین رفته در مرحله گیاهچه ای (قبل و پس از خروج از خاک) صورت پذیرفت و درصد آنها نسبت به تیمار شاهد محاسبه شد.

## نتایج و بحث

### مشخصات کلیدی گونه های *Pythium* جداسازی شده و فراوانی نسبی آنها

مشخصات گونه ها:

1- Corn meal Agar

2-potato carrot Agar

*Pythium ultimum* var. ultimum Trow

پرگنه روی محیط CMA به صورت پنبه ای با ریسه های هوایی و تورم های هیفی. اوگونیوم کروی با دیواره صاف انتهایی یا بین هیفی ۲۷/۵–۱۵ با میانگین ۲۱/۹۵ میکرومتر. االسپور کروی با دیواره صاف به اندازه ۲۲–۱۰ و میانگین ۱۸/۱۱ میکرومتر. قطر دیواره اُاسپور اغلب تا ۲ میکرومتر. (شکل ۱ و۲)

***Pythium aphanidermatum* (Edson)**

پرگنه در محیط CMA به صورت پنبه ای با ریسه های هوایی، اسپورانژیوم انگشتی و متورم، اوگونیوم با دیوارهٔ صاف، کروی به اندازهٔ ۲۸–۲۲ با میانگین ۲۴/۱۲ میکرومتر. اُاسپورکروی با دیوارهٔ صاف به اندازهٔ ۲۴–۱۸ با میانگین ۲۰/۳ میکرومتر. قطردیواره االسپور ۲–۱ میکرومتر. (شکل۲ و۳)

***Pythium amasculinum* ü Y**

پرگنه روی محیط CMA به صورت صاف ، قطرهیف تا ۷ میکرومتر، هیف ها دندانه ای، اسپورانژیوم مرکب، کروی و تخم مرغی به اندازه ۲۳–۱۵ میکرومتر، اوگونیوم انتهایی یا بین هیفی کروی با دیوارهٔ خاردار به اندازهٔ ۲۷/۵ – ۱۷/۵ با میانگین ۲۲/۵ میکرومتر ، اندازهٔ خارها ۵–۲/۵ به ندرت بیشتر از ۵ میکرومتر. پایه خار با میانگین ۲/۵ میکرومتر. اُاسپور کروی به اندازه ۲۵–۱۶ با میانگین۲۰ میکرومتر. قطر دیوارهٔ اُاسپور کمتر از ۲ بدون آنتریدیوم. رشد روزانه کلنی در دمای$^0$C ۲۵ روی محیط CMA۲۰ میلی متر بدست آمد. این گونه از Kunming Yunan چین گزارش شده است. شکل۴ و ۵)

***Pythium echinulatum* Mattews**

پرگنه قارچ روی محیط CMA به صورت صاف با آرایش گل میخکی. اسپورانژیوم کروی ۲۸–۱۵ میکرومتر. االگونیوم کروی تا تخم مرغی به صورت انتهایی یا بین هیفی با دیواره خاردار، طول خارها ۶/۲۵–۲، قطرااگونیوم ۳۰–۱۵ با میانگین ۲۲ میکرون (بدون خار). االسپورکروی ۲۵–۱۰ با میانگین ۱۹/۶۱ میکرومتر، ضخامت دیوارهٔ االسپور تا ۲/۵ میکرومتر. (۶ .و۷)

***Pythium paroecandrum* Drechsler**

پرگنه در محیط CMA به صورت صاف، اسپورانژیوم کروی تا تخم‌مرغی، انتهایی و بین هیفی با قطر ۳۳ ـ ۱۲ میکرومتر، االگونیوم کروی اغلب بین هیفی ۲۴ــ ۱۷ میکرومتر، آنتریدیوم ۲ــ۱ در هر اوگونیوم، یک پایه یا دوپایه، االسپور با دیواره صاف ۲۳ـ۱۵ میکرومتر، قطر دیواره االسپور ۱/۵ میکرومتر. شکل ۸ و۹)

***Pythium oligandrum* Drechsler**

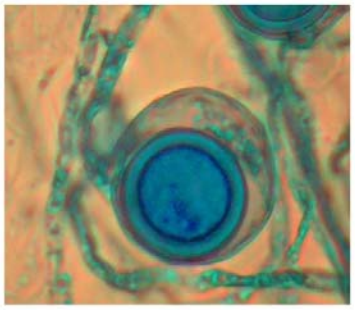
پرگنه در محیط CMA به صورت صاف، اسپورانژیوم به صورت مرکب، االگونیوم انتهایی یا بین هیفی ۲۷ـ۱۸ میکرومتر، دیواره اسپور دارای تزئینات خار مانند ۱۰ ــ ۶ میکرومتر، قطر پایه خار ۳ــ ۲ میکرومتر، اندازه االسپور ۲۷ـ ۱۴، در بیشتر جدایه ها انتریدیوم دیده نشد. (شکل۱۰)

***Pythium* Group HS**

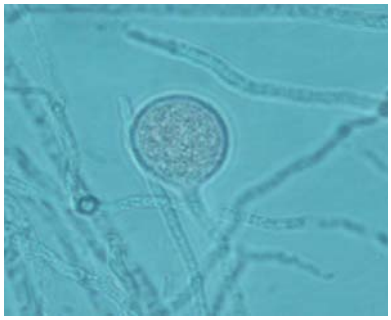
این گروه از جدایه ها در هیچ محیط کشتی قادر به تولید االسپور نبود. هیف دارای تورم های هیفی کروی شبیه اسپورانژیوم بقطر ۲۵ میکرومتر اما به علت عدم تشکیل زئوسپور در آنها بعنوان تورم هیفی در نظر گرفته شدند. قطر هیف تا۱۰ میکرومتر. (شکل ۱۱)

## فراوانی نسبی گونه های پیتیوم

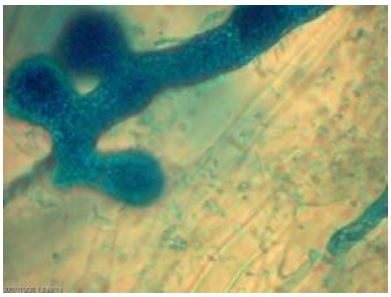
با استفاده از روش های ذکر شده در مجموع ۶۰ جدایه *Pythium* از نمونه های ریشه و خاک جدا سازی شد. جدایه ها با استفاده از کلید شناسایی و مونوگرافی Van Der Plaats ( ۳۷) مورد بررسی قرار گرفتند. از مجموع ۶۰ جدایه پیتیوم به دست آمد، ۴۶/۶۶ درصد *P. ultimum var. ultimum* ، ۱۶/ ۶۶ درصد *P. aphanidermatum*، ۱۳/۳۳ درصد *P. amasculinum* ، ۱۰ درصد *Pythium* Group HS ، ۶/۶۶ درصد *P. oliganderum* ، ۳/۳۳ درصد *P. paroecandrum* و۳/۳۳ درصد *P. echinulatum* تشخیص داده شدند. جدایه های *P. ultimum var. ultimum* و *P. aphanidermatum* به ترتیب با ۴۶/۶۶ و۱۶/۶۶ بیشترین فراوانی را داشتند.



**شکل۱- االسپور گونه *P. ultimum***

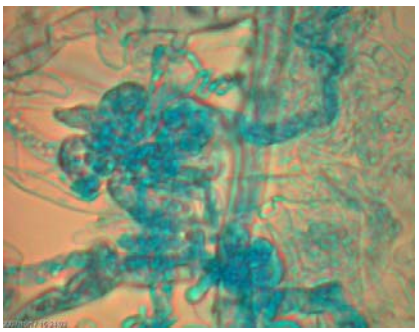


**شکل۲- تورم انتهای هیفی گونه *P. ultimum***

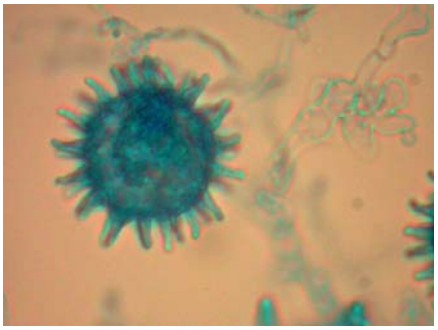


شکل۳- اسپورانژیوم انگشتی گونه *P. aphanidermatum*

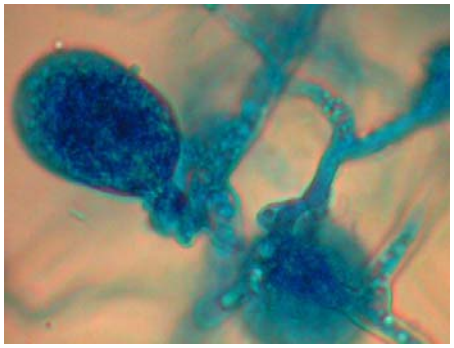
شکل٤- ااسپور گونه *P. aphanidermatum*



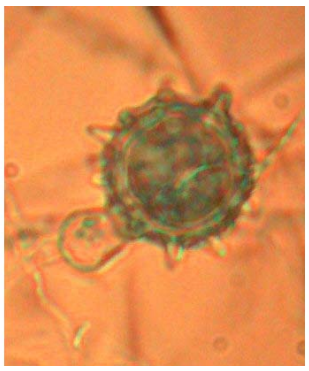
شکل٥- اسپورانژیوم مرکب گونه *P. amasculinum*



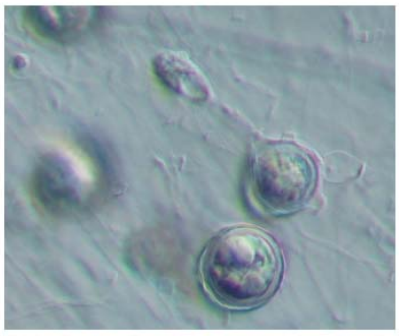
شکل٦- ااسپور گونه *P. amasculinum*



شکل۷- ااسپورانژیوم منفرد *P. echinulatum*

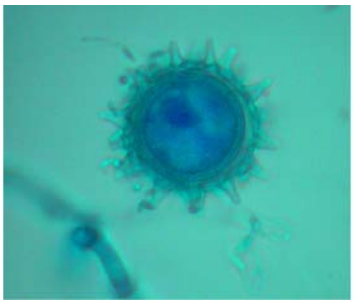


شکل۸- اتصال آنتریدی به ااگونیوم *P. echinulatum*

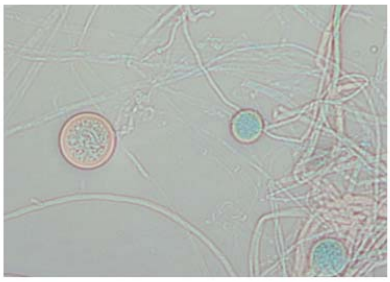


شکل۹- اتصال آنتریدی به ااگونیوم گونه *P. paroecandrum*

شکل۱۰- اسپورانژیوم بین هیفی گونه *P. paroecandrum*



**شکل۱۱- ااسپور گونه *P. oligandrum***



**شکل ۱۲- تورم های هیفی *Pythium* Group HS**

با توجه به نحوه پراکنش گونه های ذکر شده (جدول ۱) میتوان پذیرفت که پراکندگی تا حدود زیادی تحت تأثیر شرایط آب و هوائی بخصوص دمای منطقه می‌باشد. این وضعیت بخصوص در مورد دو گونه *P. ultimum* و *P. aphanidermatum* به نحو بارزتری دیده شد.

مشخصات مورفولوژیکی *Pythium ultimum* var. *ultimum* با ویژگی های ذکر شده توسط Vander plaats – Niterink (1981) و Rocha et al (2001) و همچنین Baptista et al (2004) تطابق داشت (۵، ۳۳، ۳۷). در مورد بعضی از آرایه ها شباهت هایی با *P. paroecandrum* دیده شدکه به دلیل عدم تولید زئوسپور و داشتن ا اگونیوم های انتهایی از آن متمایز می گردد. *P. ultimum* دارای ۲ واریته ی *P. ultimum* var. *sporangiferum* و *Pythium ultimum* var. *ultimum*, می باشد که در واریته ی دومی زئوسپور تولید نمی شود به همین علت آرایه های جدا شده جزء این واریته قرار گرفتند. آرایه *P. paroecandrum* به دلیل عدم داشتن تزئینات انگشت مانند اسپور از *P. irregular* و تولید زئوسپور از *P. ultimum* قابل تفکیک است ، سایر مشخصات با ویژگی‌های ذکر شده توسط واندر پلات (۳۷) قابل تطبیق است. در مورد آرایه ها ی *Pythium aphanidematum* نتایج بدست آمده با ویژگیهای ذکر شده توسط واندر پلات (۳۷) مطابقت داشت. دمای رشد بالا، آنتریدی های بین ریسه ای و اسپورانژیوم های انگشتی و متورم از ویژگیهای مهم این آرایه می باشد که آن را از سایر گونه ها متمایز می نماید.

در مورد آرایه *Pythium echinulatum* وجود اسپورانژیوم های منفرد و اندازه ی کوچک خارها آنرا از *P.amasculinum* متمایز می کند. ویژگی آرایه جدا شده با مونوگرا فی های Vander plaat-Niterink (1981)، Rocha et al (2001) و Baptista et al (2004) مطابقت دارد (۵، ۳۳، ۳۷). آرایه *P. amasculinum* شباهت زیادی به *Pythium oligandrum* دارد اما کوچک بودن خارها نسبت به این گونه آن را متمایز می کند. عدم تولید آنتریدیوم نیز این گونه را از *Pythium sinense* جدا می کند، سایر مشخصات با ویژگی‌های ذکر شده توسط وا ند ر پلات (۳۷) تطابق داشت. آرایه *Pythium* Group HS در گروه پیتیوم های هتروتال قرار گرفت زیرا در هیچ یک از محیط کشت های مورد استفاده قادر به تولید اندام جنسی نبود و به علت عدم تولید اسپورانژیوم از گروه *Pythium* Group P قابل تفکیک است. سایر مشخصات آرایه با مونو گرافی واندر پلات (۳۷) تطبیق داشت.

با توجه به نتایج به دست آمده میتوان پذیرفت که مهمترین عامل مرگ و میر گیاهچه های خیار، گوجه فرنگی، کدو، بادمجان، خربزه، طالبی و هندوانه در منطقه مورد بررسی *P. ultimum var. Ultimum* می باشد. *Ruark، Ben-Yephet* ( 1999 ) نیز این واریته را عامل پژمردگی و مرگ گیاهچه در محصولات خیار، کدو و هندوانه معرفی کردند (۶، ۳۴). گزارشی از ایران در مورد بیماریزائی این واریته بر روی محصولات صیفی دیده نشد.

گونه *P. aphanidermatum* نیز توانست روی خیار، گوجه فرنگی، بادمجان، خربزه، طالبی و هندوانه ایجاد آلودگی شدید نماید. رحیمیان و بنی هاشمی در سال ۱۳۶۸ این گونه را از بوته های بادمجان و خربزه بیمار جدا کردند. ارشاد در سال ۱۳۶۶ آنرا از بوته های خیار و گوجه فرنگی جدا سازی کرد (۱). گزارشی مبنی بر بیماریزا بودن این گونه روی طالبی، هندوانه و کدو در ایران دیده نشد. گونه *P. amasculinum* با توجه به نتایج به دست امده قادر بود روی خیار، گوجه فرنگی، بادمجان، خربزه، طالبی و هندوانه ایجاد بیماری نماید، اما روی بوته های کدو علائمی ایجاد نکرد .این قارچ تنها از Ynnan در چین از خاک جدا شده است و در مورد بیماریزایی آن گزارشی وجود ندارد (۳۷). گونه *P. echinulatum* نیز مانند گونه قبلی توانست روی خیار، گوجه فرنگی، طالبی، خربزه، هندوانه، کدو و بادمجان ایجاد آلودگی نماید. این گونه از آمریکا (۲۵، ۲۶)، استرالیا (۳۹)، نیوزلند، هند (۳۸) و ایسلند (۲۱) و ...از خاک و آب گزارش شده است.

**جدول۱-فراوانی نسبی گونه های مختلف *Pythium* جداشده از مزارع صیفی در مناطق مختلف استان خراسان رضوی و میزان بیماریزایی آنها (برحسب درصد مرگ و میر گیاهچه) بر روی صیفی جات مختلف نسبت به شاهد**

| گونه قارچ | تعداد جدایه | منطقه جدا شده | درصد مرگ و میر گیاهچه | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | خیار | خربزه | هندوانه | بادمجان | کدو | گوجه فرنگی | طالبی |
| *p. ultimum* | ۴ | مشهد | ۱۰۰ | ۸۷/۵ | ۹۳/۷۵ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۹۳/۷۵ | ۹۳/۷۵ |
| *p. u ltimum* | ۲ | سرخس | ۸۷/۵ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۸۷/۵ | ۸۷/۵ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *p. ultimum* | ۳ | فریمان | ۱۰۰ | ۸/۳۳ | ۹۱/۷۷ | ۱۰۰ | ۹۱/۷۷ | ۱۰۰ | ۹۱/۷۷ |
| *p. ultimum* | ۳ | تربت جام | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۹۱/۷۷ | ۹۱/۷۷ | ۸۳/۴۴ | ۸۳/۴۴ |
| *p. ultimum* | ۲ | نیشابور | ۸۷/۵ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۸۷/۵ | ۸۷/۵ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *p. u ltimum* | ۲ | سبزوار | ۱۰۰ | ۸۷/۵ | ۸۷/۵ | ۸۷/۵ | ۱۰۰ | ۸۷/۵ | ۱۰۰ |
| *p. ultimum* | ۴ | چناران | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۹۳/۷۵ | ۸۷/۵ | ۸۷/۵ | ۹۳/۷۵ | ۱۰۰ |
| *p. ultimum* | ۳ | قوچان | ۹۱/۷۷ | ۱۰۰ | ۹۱/۷۷ | ۸۳/۴۴ | ۹۱/۷۷ | ۹۱/۷۷ | ۱۰۰ |
| *p. ultimum* | ۲ | تربت حیدریه | ۱۰۰ | ۸۷/۵ | ۱۰۰ | ۸۷/۵ | ۱۰۰ | ۸۷/۵ | ۸۷/۵ |
| *p. ultimum* | ۱ | کاشمر | ۱۰۰ | ۷۵ | ۱۰۰ | ۷۵ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *p. ultimum* | ۱ | گناباد | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۷۵ |
| *p. ultimum* | ۱ | درگز | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *P. aphanidermatum* | ۲ | مشهد | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *P. aphanidermatum* | ۱ | خواف | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *P. aphanidermatum* | ۱ | فریمان | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۷۵ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *P. aphanidermatum* | ۱ | سبزوار | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *P. aphanidermatum* | ۲ | تربت حیدریه | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *P. aphanidermatum* | ۱ | تربت جام | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۷۵ | ۷۵ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *P. aphanidermatum* | ۱ | کاشمر | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۷۵ |
| *P. aphanidermatum* | ۱ | گناباد | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *P. amasculinum* | ۲ | مشهد | ۱۰۰ | ۳۷/۵ | ۱۰۰ | ۷۵ | ۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *P .amasculinum* | ۱ | نیشابور | ۱۰۰ | ۵۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۰ | ۱۰۰ | ۷۵ |
| *P. amasculinum* | ۱ | فریمان | ۷۵ | ۲۵ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *P. amasculinum* | ۱ | چناران | ۱۰۰ | ۵۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *P. amasculinum* | ۱ | قوچان | ۱۰۰ | ۷۵ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۰ | ۱۰۰ | ۷۵ |
| *P. amasculinum* | ۱ | کلات | ۷۵ | ۲۵ | ۱۰۰ | ۷۵ | ۰ | ۷۵ | ۷۵ |
| *P. amasculinum* | ۱ | درگز | ۱۰۰ | ۵۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۰ | ۱۰۰ | ۵۰ |
| *P .echinulatum* | ۱ | کلات | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *P. echinulatum* | ۱ | درگز | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *P .Paroecandrum* | ۱ | مشهد | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *P.Paroecandrum* | ۱ | قوچان | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *P . oligandrum* | ۱ | مشهد | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *P. oligandrum* | ۱ | کلات | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *P. oligandrum* | ۱ | درگز | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *Pythium* Group HS | ۲ | تربت جام | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۷۵ | ۸۷/۵ | ۷۵ | ۱۰۰ |
| *Pythium* Group HS | ۱ | کاشمر | ۷۵ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۷۵ | ۱۰۰ |
| *Pythium* Group HS | ۱ | فریمان | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *Pythium* Group HS | ۱ | نیشابور | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۵۰ | ۷۵ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *Pythium* Group HS | ۱ | مشهد | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۷۵ | ۷۵ | ۱۰۰ | ۷۵ | ۱۰۰ |

اما گزارشی از بیماریزایی آن روی محصولات صیفی ذکر شده بدست نیامد، و تنها بعنوان یک گونه بیماریزا روی گندم (۳۷)، توتفرنگی (۴۰) و گل بنفشه (۱۵) معرفی شده است..

گونه *P. paroecandrum* در شرایط گلخانه باعث ایجاد آلودگی روی خیار، گوجه فرنگی، طالبی، خربزه، هندوانه، کدو و بادمجان شد. این قارچ بعنوان عامل بیماریزا روی گندم (۲۳)، هویج (۲۶)، ذرت (۱۹)، هلو (۲۷) و انواع گلهای زینتی گزارش شده است.

با توجه به نتاج بدست آمده میتوان پذیرفت که بیماری پوسیدگی بذر، ریشه، طوقه، مرگ گیاهچه و احتمالاً بوته میری تعدادی از صیفی جات مانند خیار، گوجه فرنگی، کدو، بادمجان، طالبی، خربزه و هندوانه در استان خراسان رضوی مربوط به یک گونه پیتیوم نمی‌باشد بلکه حداقل ۷ گونه مختلف در ایجاد آن دخالت دارند. در اغلب موارد چندین گونه در یک مزرعه دیده شد، ولی در بین آنها *P. ultimum* var. *ultimum* در مناطق معتدل تا کمی سرد گونه غالب را تشکیل میدهد، در حالیکه در مناطق گرم *P. aphanidermatum* بیشترین فراوانی نسبی را بخود اختصاص داده است. بقیه گونه ها نیز کم و بیش بسته به شرایط آب هوائی در ایجاد بیماری ذکر شده دخالت دارند. این اطلاعات میتوانند نقش مهمی در برنامه ریزی‌های مدیریتی و اتخاذ روش‌های مناسب بمنظور مهار بیماری‌های ذکر شده و در نهایت کاهش خسارات ناشی از آنها داشته باشند.

**بیماریزایی جدایه ها**

در مورد بیماریزایی جدایه ها، نتایج بدست آمده نشان داد که جدایه های *Pythium aphanidermatum* و *Pythium echinulatum* در شرایط گلخانه قادرند بوته و بذر های خیار، گوجه فرنگی، کدو، بادمجان، خربزه، طالبی و هندوانه را آلوده کنند. علائم به صورت تیره شدن طوقه و ریشه ، پژمردگی بوته ها، پوسیدگی بذر و مرگ گیاهچه بعد از ۱۴ روز در مقایسه با شاهد قابل مشاهده بود.

جدایه های *Pythium ultimum* var. *ultimum* و *Pythium* Group HS در شرایط گلخانه قادر بودند بوته و بذر های خیار، گوجه فرنگی، کدو، بادمجان، خربزه، طالبی وهندوانه را آلوده کنند ، اما شدت و میزان آلودگی جدایه های مختلف با یکدیگر متفاوت بود. جدایه های *Pythium amasculinum* در شرایط گلخانه توانستند بوته و بذر های خیار، گوجه فرنگی، بادمجان، طالبی و هندوانه را آلوده کنند، اما روی بذر و بوته کدو هیچ گونه علائم آلودگی دیده نشد، و بوته‌ها نسبت به شاهد تفاوتی نشان ندادند. علاوه بر آن علائم ظاهر شده روی بذر و بوته های خربزه دارای شدت کمتری نسبت به سایر میزبانها بودند.

در پایان پیشنهاد می شود یک بررسی جامع در مورد پراکنش آماری گونه های مختلف در مناطق مختلف استان خراسان بزرگ صورت گیرد زیرا احتمال دارد جدایه های هر منطقه حالت اکوتیپ داشته باشند.

**جدول۲- میانگین درصد مرگ و میر گیاهچه، صیفی جات مختلف در اثر گونه های *Pythium* نسبت به شاهد**

| گونه قارچ | تعدادجدایه | درصد مرگ و میر | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | خیار | خربزه | هندوانه | بادمجان | کدو | گوجه فرنگی | طالبی |
| *p. ultimum* | ۲۸ | ۹۷ | ۹۴ | ۹۴ | ۹۰ | ۹۱ | ۹۲ | ۹۴ |
| *P. aphanidermatum* | ۱۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۹۵ | ۹۷/۵ | ۱۰۰ | ۹۷/۵ |
| *P .amasculinum* | ۸ | ۹۳/۷ | ۴۳/۷ | ۱۰۰ | ۹۰/۶ | ۰ | ۹۶/۸ | ۸۴/۳ |
| *P. echinulatum* | ۲ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *P .Paroecandrum* | ۲ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *P . oligandrum* | ۳ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ | ۱۰۰ |
| *Pythium* Group HS | ۶ | ۹۵/۸ | ۱۰۰ | ۹۵/۸ | ۸۳/۳ | ۹۱/۶ | ۷۵ | ۱۰۰ |

## منابع


۱- ارشاد ج. ۱۳۷۴. قارچهای ایران. سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. ۸۷۴ صفحه.

۲- بهداد ا. ۱۳۶۲. بیماری‌های گیاهی زراعی ایران. چاپخانه نشاط اصفهان. ۴۲۴ صفحه.

3-Androusse A. El., Aissami A. El., Rahouti M., Lahlou H. Boloud, A., and Murandi F. S. 2005. First report of *pythium diclinum* in Morocco. DEPP/EPPO, Bulletin. 35:261-264.

4- Babai-Ahari A. D., Abrinia M., and Heravan M. 2004. Identification and pathogencity of *pythium* species

causing damping-off in sugar beet in northwest Iran. Australosian Plant Pathology. 33:343-347.
5- Baptist F.R., Pires-Zottarelli, C.L.A., Rocha, M., Milanez, A.I. 2004. The genus *pythium* Pringshiem from Brazilian Cerrado areas, in the state of Sao Paulo, Brazil. Bot. 27 (2).
6- Ben-Yephet Y., and Nelson E. B. 1999. Differential suppression of damping – off caused by *pythium aphandermatium*, *p. irregular*, and *p. myriotylum* in composts at Different Temperatures. Plant Dis. 83: 356-360.
7- Bruchart W.L., and Lorbeer J. W. 1982. *Pythium* species pathogenic to onion seedling grow on organic soils in New York. Phytopathology. 72: 469-475.
8- Carvalho Y., and Milanez A. I. 1989. Efeitos da temperature e umidade do solo sorbre *pythium splendens*. Revista de Microbiologia 20: 477-482.
9- Davet P., and Rouxel F. 1997. Detection et isolament des champignons du sol. INRA. France. P. 203.
10- Delphin G., pual, B. 2000. *Pythium perpleyam* isolated from french soils: morphology, molecular characterisation and biological control. Microbiol. Res. 156: 185-189.
11- Dhingra O. D., and Sinclair J. B. 1994. Basic plant pathology methods. (second edition). Lewis publishers. Landon. P: 439.
12- Dorrance A. E., and Berry S. A. 2004. Characterization of *pythium* SPP. From three Ohia field for pathogencity on corn and soybeen and Metolaxyl sensitivity. Plant Management Net Work.P: 42
13- Elliot C. G., Hendrix, M. R., Knights, B. A., and Parker, W. 1964. A steroid growth factor requirement in a fungus. Nature (London). 203:427-428.
14- Forbes, G.A, Davert. P. 1990. Characterization and pathogenicity on seedlings of *pythium* species isolated from soybean roots in the Toulouse area. Agronomic. 10:825-830.
15- Francis, D. M., and St Clair, D. A. 1997. Population genetics of *Pythium ultimum* . phytophathology. 87: 456-461.
16- Guo L. Y., and Ko W. H. 1993. Two widely Accessible media for Growth and Reproduction of *phytopthora* and *pythium* species. Departement of plant pathology, Beaumont Agricutural Research Center, Univesirty of Hawaii at Manoa, Hilo, Hawaii. 59: 2323-2325.
17- Hendrix F. F., and compbell W. 1973. *Pythium* as plant pathogens. Annual Review of phytopathology . 11: 77-98.
18- Hendrix J. W. 1964. Sterols in growth and reproduction of fungi. Annual Review of Phytopathology. 8: 111-130.
19- Hooker, A.L. 1953. Relative pathogenicity of *pythium* species attaking seedling corn. Proc. Lova Acad. Sci. 69: 163-166.
20- Jemes, C.M., Lesemann,S.S., and Down,G.J. 2003. Modified AFLP analysis method for species with small genomes. Plant Molecular Biology. Res. 21: 303-307.
21- Johanson T.W.JR .1971. Aquatic fungi of Iceland: *pythium*. Mycologia.63:517-536.
22- Lee Y.S., and Hoy J.W. 1992. Interactions among *pythium* species affecting root rot of sugarcane. Plant Disease 76: 725-739.
23- Martin F.N. 1995. Electrophoretic karyotype in the genus *pythium*. Mycologia. 87: 333-353.
24- Matthews V.D. 1931. Studies on the genus *pythium*. Univ. N. Carol. Press, Chapel Hill. P:136.
25- Milanez A.I. 1978. *Pythium echinulatum* from Michigan soils. Nova Hedwigia.29:557-563.
26- Mildenhall J.P., and Pratt R.G. 1971. *Pythium* brown root and forking muck-grown carrots. Plant. Diseasis. Rep. 55: 536-540.
27- Miecetich S.M. 1969. Role of *pythium* in damping-off peach. Phythopathology. 59: 356-358.
28- Moorman, G.W., Kang, S., Geiser, D. M., and Kim, S. H. 2002. Identification and characterization of *pythium* species associated with greenhouse floral crops in Pennsylvania. Plant Dis . 86:1227-1231.
29-- Paul B. 2003. Characterization of a new species of *pythium* isolated from wheat field in northern franc and its antagonism towards *Botrytis cinerea* causing the grey mould disease of the grapevine. FEMS Microbiology Letters. 224: 215-223.
30- Pieczarka D. J., and Abowi G. S. 1978. Population and biology of *pythium* species associated with snap been root and soils in New York. Phytopathology .68: 409-416.
31- Raynal G. 1980. Evaluation en conditions artificielles de la resistance des plantules de Luzerne aux *pythium.* Possibilites de lutte chimique. Annual Review of phytopathology. 12: 119-130.
32- Robertson G.I. 1973. Occurrence of *pythium* spp. In New Zealand soils, sands, pumices, and peat, and

roots of container-grown plants. N.Z. JI Agric.Res.16:357-365.
33- Rocha J. R. S., Milanez A. I, and Pires-zottarelli C. L. A. 2001. Genero *pythium* (Oomycota) em areas de cerrado no parquet Nacional de Sete cidades, Piaui, Brosil. Hoehnea 28: 209-230
34- Ruark S. 2007. *Pythium myritylum*. Department of plant pathology. Soil-borne plant pathogens, NC. State university. P. 728.
35- Sanchez. J., Olivares, J. S., and Gallego, E. 2001. Occurrence and pathogenicity of *pythium* spp. In the dust deposited on the greenhouse roofs in the Poniente region of Almeria. Annual Review of Plant pathology. 83: 13-19.
36- Singletion L.L., Mihail J. D., and Rush Ch. M. 1992. Methods for Research on soil-borne Phytopathogenic Fungi : APS PRESS. The American phytopathological society.
37- Van Der Plaats-Niterink A.J. 1981. Monograph of the genus *pythium*, studies in Mycology No. 21: Central Bureau Voor Schimmelscultures, Baan, the Netherlands.
38- Vaartaja O., and Bumbieris M.1964. Abundance of *pythium* species in nursery soils in South Australia. Aust. J. Biol. Sci. 17: 436-445.
39- Vaartaja O. 1967. Damping-off pathogens in South Australia. Phytopathology 57:765-768.
40- WatanabeT. 1977. Fungi associated with strawberry roots in Japan.Trans. Mycol. Sci. Japan. 18:251-256.
41- Yemes L. K., and Nathan D. D. 1989. Reassessment of the role of phospholipids in sexual Reproduction by Sterol – Auxotrophic Fungi. J. Bacteriol. 171. 3831-3839