

بررسی تشکیل کلامیدوسپور *Phytophthora parsiana* تحت شرایط آزمایشگاه و در بافت آلوده میزبان به عنوان عامل پایداری*

FORMATION OF CHLAMYDOSPORES IN *Phytophthora parsiana* in Vivo AND in Vitro AS SURVIVAL PROPAGULES

وحیده السادات رفیعی و ضیاء الدین بنی هاشمی**^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۳/۳۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۴/۱۲)

برای بررسی امکان تشکیل کلامیدوسپور *Phytophthora parsiana*، بلوک‌هایی از کشت پنج روزه بیمارگر روی محیط‌های کشت CA، CV-8A و CMA، HSA، WA، PDA و کشت شده و به مدت چهار روز در دمای اتاق قرار گرفتند. پس از رشد کامل، تشتک‌های پتری به پنج درجه سانتی‌گراد منتقل شده و به مدت یک سال به طور ماهیانه در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین جهت بررسی کلامیدوسپور در بافت میزبان، ریشه و طوقه نهال‌های بادام و پسته آلوده به بیمارگر و نیز نهال‌های سالم از خاک خارج و پس از شست و شو در کیسه‌های پلاستیک حاوی ماسه سترون قرار داده شد و به مدت ۶-۱۲ ماه در چهار درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شده و هر ماه در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفتند. برای این منظور در زیر هود قسمتی از ریشه یا طوقه از ماسه خارج و پس از شست و شو با آب به مدت یک ساعت در KOH ۳٪ قرار گرفتند. سپس مقداری از ریشه روی لام تمیز قرار داده شده و یک قطره رنگ اسیدفوشین - لاکتوفنول روی آن ریخته و با فشار لامل، بافت ریشه به طور کامل له شد و در زیر میکروسکوپ به دقت مورد بررسی قرار گرفت. ریشه‌های حاوی اندام گرد و ضخیم مشکوک به کلامیدوسپور در یک بشر با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون قرار داده شد و به مدت ۷۲ ساعت در فریزر در دمای ۲۰-°C نگهداری و پس از بیرون آمدن از این دما قسمتی از ریشه روی محیط کشت PARP کشت داده شد. با بررسی‌های دقیق میکروسکوپی، بیمارگر تحت شرایط آزمایشگاه تنها در محیط کشت جامد عصاره هویج-آگار (CA) قادر به تولید کلامیدوسپور بود اما در سایر محیط‌های کشت، بیمارگر هیچ اندام مشکوک به کلامیدوسپوری تولید نکرد. متوسط قطر کلامیدوسپورهای تشکیل شده در محیط کشت CA، ۲۹/۷ میکرومتر با حداکثر قطر ۳۳/۱ و حداقل قطر ۱۴/۳ میکرومتر و متوسط دیواره آن‌ها ۱/۴ میکرومتر بود. در ریشه‌های آلوده نهال‌های بادام و پسته رقم سرخس نیز پس از چهار ماه نگهداری در این اندام‌ها توانایی رشد مجدد را روی محیط کشت PARP، پس از خروج از خروج از دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد داشتند. در

* بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول، ارائه شده به دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

** مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: zia1937@gmail.com

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استاد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز



Fig. 1. Clamydospore formation of *Phytophthora parsiana* on carrot agar medium after 15 days at 4°C

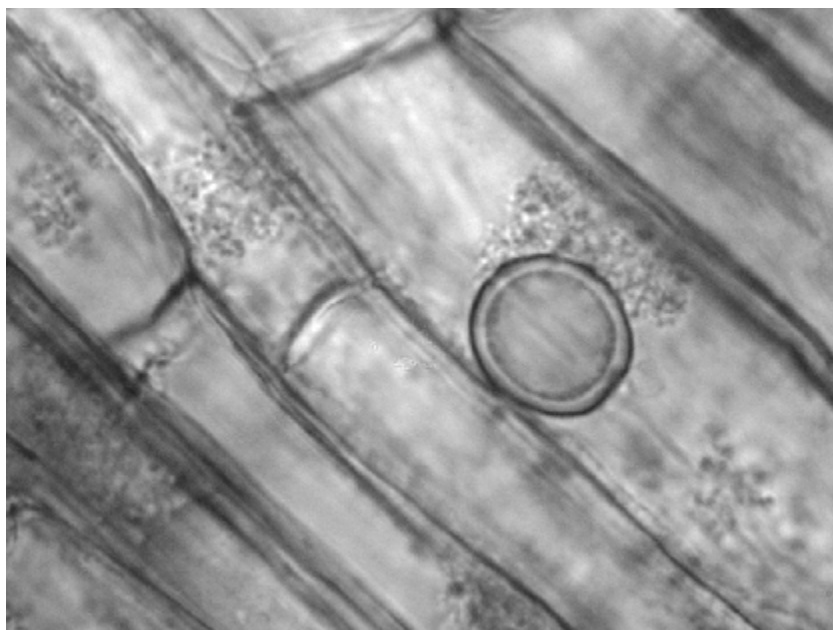


Fig. 2. Clamydospore formation of *Phytophthora parsiana* in almond roots after 4 months at 4°C.

ریشه‌های گیاهان شاهد (ریشه و طوقه نهال‌های بادام و پسته سالم) هیچ اندام گرد با دیواره ضخیم مشکوک به کلامیدوسپور چهار درجه سانتی‌گراد اندام‌های گرد با دیواره ضخیم مشکوک به کلامیدوسپور دیده شد. این اندام‌ها به تعداد کم در قسمت‌های مختلف ریشه و طوقه تمامی گیاهان آلوده به جدایه‌های مختلف بیمارگر مشاهده شدند. ریشه و طوقه‌های حاوی مشاهده نگردید. با اندازه‌گیری قطر کلامیدوسپورهای موجود در ریشه‌های آلوده میزبان مشخص شد این اندام‌ها نسبت به کلامیدوسپورهای تشکیل شده در محیط کشت CA بزرگ‌تر بوده به طوری که متوسط قطر آنها ۳۲/۴۷ میکرومتر با حداکثر قطر ۴۴/۳۹ و حداقل قطر ۲۰/۰۹ میکرومتر و متوسط قطر دیواره این اندام‌ها نیز ۲/۰۷ میکرومتر بود. است.