مقاله کوتاه

نقش گونه‌های *Pythium aphanidermatum* و *Phytophthora melonis* در پوسیدگی ریشه و طوقه خیار گلخانه‌ای در یاسوج

THE ROLE OF *Pythium aphanidermatum* AND *Phytophthora melonis* IN ROOT AND CROWN ROT ON GREENHOUSE CUCUMBER IN YASOUJ

فریبا قادری [۱*]

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۶/۲۸؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۲/۲۱)

چکیده

طی چند سال اخیر، علائم پوسیدگی ریشه و طوقه خیار در گلخانه‌های یاسوج دیده شد. به منظور جداسازی عامل بیماری، بافت‌های آلوده بعد از شستشو با آب لوله و خشک کردن به قطعات پنج میلی‌متر تقسیم و بدون ضدعفونی سطحی روی محیط کشت نیمه انتخابی CMA-PARP کشت گردید. از بافت‌های آلوده ۲۵ جدایه به دست آمد که بر اساس خصوصیات مورفولوژیک و نیاز دمایی پرگنه‌های جدا شده *Pythum aphanidermatum* و *Phytophthora melonis* تشخیص داده شد. در شرایط گلخانه عکس‌العمل طوقه و ریشه گیاهچه‌های دو هفته ارقام نگین، کلوز، فادیا، کاترینا، بهمن و سینا به دو گونه *P. aphanidermatum* و *Ph. melonis* با استفاده از مایه به دست آمده از محیط ورمی‌کولیت – عصاره دانه شاهدانه مورد مطالعه قرار گرفت. مقایسه درصد کلونیزاسیون طوقه، ریشه و مرگ و میر ارقام مختلف خیار در واکنش به گونه *Ph. melonis* نشان داد ارقام فادیا و بهمن بیشترین و ارقام مهر و کلوز کمترین حساسیت به این گونه دارند. ولی در واکنش با گونه *P. aphanidermatum* عکس‌العمل‌های متفاوتی ارقام از خود نشان دادند. مقایسه درصد کلونیزاسیون طوقه در واکنش با گونه *P. aphanidermatum* نشان داد اختلاف معنی‌داری بین ارقام بهمن، نگین، کلوز، سینا و فادیا وجود ندارد و ارقام مهر و کاترینا بیشترین حساسیت را دارد. مقایسه درصد مرگ و میر نشان داد تفاوت معنی‌داری از لحاظ مرگ و میر بین تمام ارقام در واکنش با گونه *P. aphanidermatum* وجود ندارد. مقایسه درصد کلونیزاسیون ریشه نشان داد در واکنش با گونه *P. aphanidermatum*، اختلاف معنی‌داری بین ارقام مهر، بهمن، نگین، کلوز، سینا و فادیا وجود ندارد و رقم کاترینا بیشترین حساسیت را دارد.

واژه‌های کلیدی: خیار گلخانه‌ای، *Phytophthora melonis* و *Pythium aphanidermatum*

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: fghaderi2003@yahoo.com

۱. مربی گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

در پی گسترش روزافزون کشت محصولات گلخانه‌ای به خصوص خیار گلخانه‌ای، بیماری‌های گلخانه‌ای به ویژه بوته‌میری گسترش زیادی یافته است که باعث از بین رفتن مقدار زیادی از این محصول شده است.

رحیمیان و بنی‌هاشمی (Rahimian and Banihashemi 1979) گونه *P. aphanidermatum* را عامل پوسیدگی ریشه و مرگ گیاهچه در کدوئیان ذکر نموده و تمام ارقام خیار را حساس به گونه *P. aphanidermatum* معرفی نمودند. *منصوری و بنی‌هاشمی* (Mansoori and Banihashemi 1982) گونه *Ph. drechsleri* را یک بیمارگر خاکزاد خطرناک برای کدوئیان معرفی نموده و ارقام Ohio MR 17 و محلی خیار از ایران را به عنوان ارقام مقاوم به این گونه معرفی نمودند. *شریفی‌تهرانی و همکاران* (Shrifi-Tehrani *et al*. 1996) گونه *P. ultimum* را به عنوان عامل بوته‌میری خیار گزارش نمودند.

اولین گزارش پوسیدگی طوقه و ریشه خیار در سال ۱۹۳۷ رخ داد که حدود دو تا سه هکتار مزرعه خیار صد در صد از بین رفتند و عامل آن *Ph. capsici* تشخیص داده شد (Kreutzer 1937). کاتسورا (Katsura 1968) برای اولین بار گونه *Ph. melonis* را از گیاهان خیار بیمار در ژاپن جدا کرد. در چین *هو و همکاران* (Ho *et al*. 1984) روی جدایه‌های فیتوفتورا از خیار آزمایش و آنها را بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی به نام *Ph. drechsleri* شناسایی کردند. آنها جدایه‌های خیار از ایران، ژاپن، تایوان و چین را تحت شرایط محیط کشت مشابه مقایسه و نتیجه‌گیری کردند که *Ph. drechsleri* ، *Ph. melonis* از نظر خصوصیات ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی مشابه هستند.

هو (Ho 1986) پیشنهاد کرد *Ph. melonis* می‌تواند مترادف با *Ph. drechsleri* باشد زیرا هر دو قادر به رشد در دمای $35^{\circ}C$ هستند و ریخت‌شناسی اسپورانجیوم و اُاُگونیوم آنها مشابه می‌باشد. *بنی‌هاشمی و میرطالبی* (Banihashemi and Mirtalebi 2006) با استفاده از عکس‌العمل گیاهچه گلرنگ، دو گونه *Ph. melonis* و *Ph. drechsleri* را از هم تفکیک نمود. *پوستوما* (Postma *et al*. 2000) گونه *P. aphanidermatum* را دارای میزبان‌های متعددی در گلخانه و مزرعه معرفی نمود. مورمن و همکاران (Moormam *et al*. 2002) گونه‌های *P. aphanidermatum*، *P. irregulare*، *P. dissotocum*، *P. heterothallicum* ، *P. ultimum* و *P. myriotylm* را عامل پوسیدگی طوقه و ریشه خیارگلخانه‌ای در پنسیل وانیا معرفی نمودند.

هووارد و همکاران (Howard *et al*. 1994.) گونه‌های *P. aphanidermatum*، *P. ultimum* و *P. regulare* از عوامل اصلی مرگ گیاهچه و پژمردگی ناگهانی خیار گلخانه‌ای کانادا معرفی نمودند. هاس‌بک و لامور (Hausbeck and Lamour 2004)گونه *Ph. capsici* را به عنوان یک فاکتور محدود کننده خیار گلخانه‌ای در چند منطقه از ایالات متحده آمریکا معرفی نمودند. هم‌چنین در کشور نروژ عامل پوسیدگی ریشه و طوقه خیار توسط *هرو و همکاران* (Herrero *et al*. 2008) مورد بررسی قرار گرفت و عامل آن *Ph. capsici* گزارش گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

روش بررسی

از طوقه و ریشه گیاهچه‌های مرده و یا در حال زوال گلخانه‌ها مناطق مختلف شهرستان بویراحمد (نره‌گاه، سرآبتاوه، چنارستان، کریم‌آباد، خلف‌آباد، شرف‌آباد، مختار، دشت‌روم، وزگ، مازه‌خریده، اکبرآباد، سپیدار و علی‌آباد) نمونه‌برداری شد. هم‌چنین از مجاور طوقه خیارهای آلوده نیز حدود یک کیلوگرم خاک برداشته شد و نمونه‌ها درون کیسه‌های نایلونی در صندوق حاوی یخ به آزمایشگاه منتقل شدند.

در آزمایشگاه بافت‌های آلوده زیر آب لوله به ملایمت شسته شدند، تا قارچ‌های سطحی پوده‌زی و مواد اضافی در سطح بافت شسته شود. سپس بافت به قطعات ۵-۲ میلی‌متر مربع تقسیم شد، با حوله کاغذی خشک گردید و روی محیط کشت نیمه انتخابی CMA-PARP (Kannwischer and Mitchell 1981) کشت و در دمای ۲۵ °C نگهداری شد. برای مشاهده مقدماتی قارچ‌هایی که روی محیط کشت نیمه انتخابی رشد کرده بودند از تعدادی دانه شاهدانه استفاده شد (Ribeiro 1978).

برای تشخیص گونه‌ها بعد از خالص‌سازی، بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی اندام‌های رویشی، تولیدمثلی و دماهای رشد و با استفاده از کلیدهای موجود اقدام شد (Erwin and Ribeiro 1996). علاوه بر این از آزمون بیماری‌زایی به روش *مستوفی‌زاده قلمفرسا و همکاران* (Mostowfizadeh-Ghalamfarsa, *et al.* 2005) و آزمون بیماریزایی با گیاهچه گلرنگ به *روش بنی‌هاشمی و میرطالبی* (Banihashemi and Mirtalebi 2006) استفاده شد. برای تشکیل اندام‌های جنسی تیپ‌های آمیزشی مختلف از گونه‌های موجود در کلکسیون گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی یاسوج بر روی محیط HSA استفاده گردید.

برای پرورش گیاهچه، بذور ارقام مختلف خیار (مهر، بهمن، نگین، کلوز، سینا، فادیا و کاترینا) تهیه شد و بعد از ۱۲ ساعت خیساندن، در گلدان‌های پلاستیکی (۱۵سانتی‌متری) در شرایط گلخانه کشت داده شدند. گلدان‌ها تا عمق ده سانتی‌متری با خاک لومی رسی سترون پُر شدند. بعد از آبیاری در هر گلدان دو بذر کاشته و روی آن به ارتفاع نیم سانتی‌متر خاک ریخته شد.

در کیسه‌های پلاستیکی، ۲۰۰ میلی‌لیتر ورمی‌کولیت ریخته شد و به آن ۱۲۰ میلی‌لیتر عصاره شاهدانه (عصاره ۶۰ گرم دانه شاهدانه در لیتر آب مقطر) اضافه شد و سترون گردید. دو تا سه روز بعد از آن، از پرگنه جدایه موردنظر، که قبلاً روی محیط کشت نیمه انتخابی CMA-PARP رشد کرده بودند، هشت بلوک میسلیومی به قطر شش میلی‌متر به کیسه‌های پلاستیکی اضافه گردید. سپس کیسه‌های پلاستیکی به مدت چهار هفته در ۲۵ °C و در تاریکی قرار داده شدند (Banihashemi and Fatehi 1989).

از گیاهچه‌های دو هفته‌ای خیار برای مایه‌زنی استفاده گردید. خاک اطراف هر گیاهچه تا عمق سه سانتی‌متری کنار زده شد و ۱۰ میلی‌لیتر از مایه تهیه شده در اطراف طوقه و ریشه هر گیاهچه قرار داده شد.

برای تعیین حضور فعال قارچ در خاک بلافاصله سوراخ زه آب گلدان‌ها با پارافین جامد بسته شده، خاک گلدان‌ها با روش طعمه‌گذاری با برگ مرکبات بررسی شد تا حضور فعال قارچ‌های پی‌تیوم و فیتوفتورا در خاک مشخص گردد (Banihashemi 2004). گیاهان شاهد نیز با همین روش، ولی ورمی‌کولیت حاوی عصاره شاهدانه مایه‌زنی شدند. برای هر تیمار ده گلدان (هر گلدان حاوی

Archive of SID

www.SID.ir

دو گیاهچه) در نظر گرفته شد. بعد از دو هفته، گیاهچه‌ها از خاک خارج شده و درصد کلونیزاسیون طوقه، ریشه و مرگ و میر مورد بررسی قرار گرفتند. برای محاسبه درصد کلونیزاسیون هر کدام از بافت‌ها، از هر بافت ۵۰ قطعه چند میلی‌متری بریده شده و بعد از حذف آب اضافی با کمک حوله کاغذی، این قطعات بر روی محیط نیمه انتخابی CMA-PARP کشت و در دمای ۲۵ °C قرار داده شدند. از روز دوم به بعد، نمونه‌ها جهت مشاهده ظهور پرگنه‌های مورد بررسی قرار گرفتند. آزمایش در قالب بلوک کاملاً تصادفی انجام گرفت و بعد از اتمام آزمایش داده‌ها مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد صورت پذیرفت.

نتیجه و بحث

بر اساس نمونه‌برداری‌هایی که در گلخانه‌های شهرستان بویراحمد انجام گرفت، ۲۵ جدایه از بافت‌های طوقه و ریشه‌ی خیار به دست آمد (جدول ۱). این جدایه‌ها بر اساس خصوصیات مختلف ریخت‌شناسی و میزان رشد در دماهای مختلف در دو گروه مجزا قرار گرفتند. در گروه اول (جدایه‌های ۱تا ۱۰)، اسپورانجیوم‌ها بدون پاپیل، غیر ریزان، انتهایی و به شکل گلابی عریض تا کشیده و متوسط ابعاد آن‌ها ۱۹/۴۱×۳۱/۲۴ میکرومتر است. اُاُگونیوم‌ها به شکل کروی و با دیواره صاف بوده و به صورت انتهایی تشکیل می‌شوند. آنتریدیوم‌ها آمفیژن هستند. اُاُسپور کروی، دارای دیواره صاف و بدون تزئینات بوده و تقریباً تمام فضای اُاُگونیوم را پُر می‌کند و متوسط ابعاد آن‌ها ۳۳/۱۹ میکرومتر می‌باشد. پرگنه‌های حاصل از کشت‌های نوک ریسه و تک اسپور فاقد اُاُسپور بودند. دماهای ویژه شامل کمینه ۵ °C، بهینه ۲۵ °C و بیشینه ۳۷ °C بود. تمام جدایه‌های گروه اول روی گیاهچه‌های گلرنگ ایجاد بوته‌میری نکردند. هم‌چنین سیب‌زمینی‌های مایه‌زنی شده با این جدایه‌ها دچار پوسیدگی صورتی نشد.

در گروه دوم (جدایه‌های ۱۱تا ۲۵)، اسپورانجیوم انگشتی متورم با ابعاد مختلف و متوسط ابعاد آنها ۱۸/۵۱×۲۱/۳ میکرومتر می‌باشد. اُاُگونیوم کروی شکل و با دیواره صاف و به صورت انتهایی تشکیل می‌شوند. آنتریدیوم پاراجینوس، مونوکلاین یا دی‌کلاین بوده و اغلب بین ریسه هستند. اُاُسپور کروی، دارای دیواره صاف و بدون تزئینات بوده و حجم اُاُگونیوم را پُر نمی‌کند. متوسط ابعاد اُاُسپور ۲۰/۳٤ میکرومتر است (پرگنه‌های حاصل از کشت‌های نوک ریسه و تک اسپور روی محیط HSA تولید اُاُسپور نمودند). دماهای ویژه شامل کمینه ۱۰ °C، بهینه ۳۵ °C و بیشینه ۴۰ °C بود. جدایه‌های گروه اول و دوم به ترتیب *Ph. melonis* و *P. aphanidermatum* تشخیص داده شدند.

مقایسه درصد کلونیزاسیون طوقه، ریشه و مرگ و میر (جدول ۱) نشان داد در واکنش ارقام با گونه *P. aphanidermatum*، تفاوت معنی‌داری از لحاظ مرگ و میر مابین ارقام وجود ندارد. همچنن اختلاف معنی‌داری از لحاظ درصد پوسیدگی ریشه بین ارقام مهر، بهمن، نگین، کلوز، سینا و فادیا وجود نداشته و رقم کاترینا بیشترین حساسیت را دارد و نهایتاً از لحاظ درصد پوسیدگی طوقه اختلاف معنی‌داری بین ارقام بهمن، نگین، کلوز، سینا و فادیا وجود نداشته و ارقام مهر و کاترینا بیشترین حساسیت را دارد. مقایسه درصد کلونیزاسیون طوقه، ریشه و مرگ و میر در واکنش ارقام با گونه *Ph. melonis* متفاوت بود. ولی در تمام موارد ارقام فادیا و بهمن بیشترین و ارقام مهر و کلوز کمترین

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱. منابع جداسازی جدایه‌های *Ph. melonis* و *P. aphanidermatum* از خیار گلخانه‌ای در یاسوج

Table 1. Sources of isolates of *Ph. melonis* and *P. aphanidermatum* on greenhouse cucumber in Yasouj

گونه Species	تعدادجدایه No. of isolate	منطقه Location	منبع Source
Ph. melonis	2	چنارستان Chenarestan	طوقه (Crown)
Ph. melonis	1	شرف‌آباد Sharaf-Abad	طوقه و ریشه (Root and Crown)
Ph. melonis	3	دشت‌روم Dashteroom	طوقه و ریشه (Root and Crown)
Ph. melonis	1	سرآبتاوه Sareabtaveh	طوقه (Crown)
Ph. melonis	2	سپیدار Sepidar	طوقه و ریشه (Root and Crown)
Ph. melonis	1	نره‌گاه Naregah	طوقه (Crown)
P. aphanidermatum	3	اکبرآباد Akbar-Abad	طوقه و ریشه (Root and Crown)
P. aphanidermatum	2	کریم‌آباد Karim-Abad	طوقه (Crown)
P. aphanidermatum	1	وزگ Vezg	طوقه و ریشه (Root and Crown)
P. aphanidermatum	2	مازه‌خریده Mazeh-Kharideh	طوقه (Crown)
P. aphanidermatum	2	خلف‌آباد Khalaf-Abad	طوقه (Crown)
P. aphanidermatum	3	مختار Mokhtar	طوقه و ریشه (Root and Crown)
P. aphanidermatum	2	علی‌آباد Ali-Abad	طوقه و ریشه (Root and Crown)

حساسیت را نشان داد. در ۱۰ جدایه مشکوک، بوته‌میری گیاهچه‌های گلرنگ و پوسیدگی صورتی روی سیب‌زمینی دیده نشد.

سنجش بیماری‌زایی ارقام مختلف خیار با دو گونه *P. aphanidermatum* و *Ph. melonis* در قالب بلوک کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه روی ارقام مختلف خیار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به درصد کلونیزاسیون طوقه، ریشه و مرگ و میر و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن نشان داد گونه *P. aphanidermatum* بیماریزاتر از گونه *Ph. Melonis* بود (جدول ۲).

در این تحقیق تمام ارقام خیار گلخانه‌ای به گونه *P. aphanidermatum* حساس بودند و این نتایج با نتایج *رحیمیان و بنی‌هاشمی* (Rahimian and Banihashemi 1979) تا حدودی مطابقت دارد. آنها تمام ارقام خیار (غیر گلخانه‌ای) را حساس به گونه *P. aphanidermatum* معرفی نمودند.

در این تحقیق ارقام سینا و کلوز مقاومت بیشتری نسبت به گونه *Ph. melonis* از خود نشان دادند، در حالی که *منصوری و بنی‌هاشمی* (Mansoori and Banihashemi 1982) نیز در مطالعات خود ارقام Ohio MR 17 و محلی خیار (خیار غیر گلخانه‌ای) از ایران را به عنوان ارقام مقاوم به گونه *Ph. drechsleri* معرفی نمودند.

Archive of SID

www.SID.ir

جـدول۲. مقـایسه میـانگین درصـد کلونیزاسـیون طوقـه، ریـشه و مـرگ و میر ایجـاد شـده در ارقـام خیـار بـا گونـه‌هـای *P. aphanidermatum* و *Ph. melonis* با استفاده آزمون دانکن در سطح یک درصد

Table2. Comparison of percent root and crown colonization and dead seedling means in cucumber cultivars with two isolates of *P. aphanidermatum* and *Ph. melonis* using Duncan 's multiple range test ($P \leq 0.01$)

Cultivar	Speacies	Crown rot(٪)	Dead seedling(٪)	Root rot(٪)
Katrina	*P. aphanidermatum.*	94/1a	95/9a	94/35a
	Ph. Melonis	34/41f	42/5e	39/9e
Mehr	*P. aphanidermatum.*	93/8a	90/22ab	80/58b
	Ph. Melonis	21/5h	26/5g	34/8f
Bahman	*P. aphanidermatum.*	82/74b	89/11ab	82/3b
	Ph. Melonis	43/9d	59/84c	45/62d
Negin	*P. aphanidermatum.*	81/64b	90/1ab	81/2b
	Ph. melonis	30/2fg	37/1ef	38/88e
Fadia	*P. aphanidermatum.*	80/9b	88/15ab	79/4bc
	Ph. Melonis	44/21d	58/84c	44/41d
Cina	*P. aphanidermatum.*	78/42bc	88/4ab	78/5bc
	Ph. Melonis	39/71e	47/72d	40/9e
Close	*P. aphanidermatum.*	79/1bc	81/1b	79/3bc
	Ph. melonis	20/9h	27/32g	35/2f

در این تحقیق فقط گونـه‌هـای *P. aphanidermatum* و *Ph. melonis* جداسازی شد. در حالی که به غیـر از ایـن گونه‌ها ممکن است گونه‌هـای دیگـری نیـز در گلخانـه‌هـا وجود داشته باشند، که جدا نگردیده‌اند. این عدم جداسازی عامل بیماری نشانگر عدم وجـود قـارچ در خـاک نیـست. عدم موفقیت در جداسازی عامل بیماری احتمالاً بـه علـت کاهش زادمایه قارچ در رابطـه بـا تغییـر عوامـل ناشـناخته محیطی خاک تصور می‌شود. بنابراین استفاده از محیط‌های انتخابی و روش‌های جداسازی متفاوت بایـد در آینـده بـه کار گرفته شود.

در این بررسی اکثر جدایه‌های به دست آمده از هر دو بافت طوقه و ریشه جداسـازی شـدند (جـدول ۱). آب نقش بسیار مهمی در پراکندگی عامل بیماری در گونه‌هـای *Phytophthora* و *Pythum* دارد زیـــرا جمعیـــت اسپورانجیوم در سطح آب بیشتر بوده و شرایط مناسب‌تری برای پژمردگی و پوسیدگی طوقه و ریشه فراهم مـی‌نمایـد (Duniway 1974).

در این تحقیق برای تشخیص ۱۰جدایه مشکوک از گیاهچه‌های گلرنگ استفاده شـد. ایـن روش، معیـار ثـابتی است و وابسته بـه رقـم نیـست (Esmaili-Shirazifard and Banihashemi, 2008; Banihashemi and Mirtalebi, 2006). هم‌چنـین روش پوسـیدگی صـورتی سیب‌زمینی روش دیگری که در این تحقیق استفاده شد، در ایـن روش دمـا یـک فـاکتور مـوثر در صـحت آزمـون بیماری‌زایی پوسیدگی صورتی سـیب‌زمینـی اسـت و ایـن یافته ما را برآن می‌دارد که تمام فاکتورهای لازم برای انجام

Archive of SID

www.SID.ir

آزمون را ثابت نگه داریم تا نتایج صحیح و قابل اطمینانی حاصل آید (Mostowfizadeh-Ghalamfarsa *et al.* 2005).چون دما و زمان در صحت نتایج پوسیدگی صورتی سیب‌زمینی موثر هستند. بنابراین روش گلرنگ مناسب‌تر از روش پوسیدگی صورتی سیب‌زمینی می‌باشد. با توجه به عدم بوته‌میری و عدم ایجاد پوسیدگی صورتی در سیب‌زمینی جدایه‌ها *Ph. melonis* تشخیص داده شدند.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (102-101) متن انگلیسی مراجعه شود.

Archive of SID

www.SID.ir