مجله پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد هجدهم، شماره سوم، ۱۳۹۰
www.gau.ac.ir/journals

جداسازی و شناسایی گونه‌های فیتوفتورا از خیار گلخانه‌ای در جنوب استان کهگیلویه و بویراحمد و تعیین واکنش ارقام مختلف این گونه از خیارها به عامل بیماری یاد شده به آن‌ها

*فریبا قادری[۱]، شهرام عسکری[۲] و محمد عبدالهی[۳]
[۱]مربی گروه گیاهپزشکی، دانشگاه یاسوج، [۲]کارشناس حفظ نباتات، سازمان جهاد کشاورزی یاسوج،
[۳]استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه یاسوج
تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۰/۲/۲۶

چکیده

این مطالعه به‌منظور شناسایی و بررسی اهمیت گونه‌های فیتوفتورا در پوسیدگی ریشه و طوقه خیار در گلخانه‌های جنوب استان کهگیلویه و بویراحمد انجام شد. برای این کار از بافت پوسیده طوقه و ریشه، قطعات ۵ میلی‌متر مربع جدا شده، بعد از شستشو با آب و خشک کردن با حوله کاغذی بدون ضدعفونی سطحی روی محیط کشت نیمه انتخابی CMA-PARP کشت گردید. از بافت‌های آلوده ۴۰ جدایه به‌دست آمد که براساس خصوصیات مورفولوژیک و نیاز دمایی پرگنه‌های جدا شده *Phytophthora capsici* و *P. drechsleri* تشخیص داده شد. از ۴۰ جدایه به‌دست آمده، ۱۷ جدایه به *P. capsici* تعلق داشت و *P. drechsleri*، ۲۳ جدایه را به خود اختصاص داد. در شرایط گلخانه عکس‌العمل طوقه و ریشه گیاهچه‌های ۲ هفته ارقام نگین، کلوز، فادیا، کاترینا، بهمن و سینا به دو گونه *P. capsici* و *P. drechsleri* و با استفاده از مایه به‌دست آمده از محیط ورمی‌کولیت- عصاره بذر گیاه شاه‌دانه مورد مطالعه قرار گرفت و درصد استقرار بیمارگر بر روی طوقه، ریشه و مرگ و میر ارزیابی گردید. مقایسه درصد مرگ و میر و میزان استقرار بیمارگر بر روی طوقه نشان داد که رقم مهر و سینا به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین حساسیت به گونه *P. drechsleri* و رقم کلوز و فادیا به‌ترتیب

* مسئول مکاتبه: fghaderi2003@yahoo.com

بیش‌ترین و کم‌ترین حساسیت را به گونه *P. capsici* نشان دادند. مقایسه درصد اسقرار بر روی ریشه نشان داد در واکنش به گونه *P. drechsleri* تفاوت معنی‌داری مابین ارقام کلوز، مهر، کاترینا و نگین وجود ندارد و رقم سینا کم‌ترین حساسیت به این بیمارگر دارد. در واکنش به گونه *P. capsici* ارقام کلوز و سینا بیش‌ترین حساسیت و رقم فادیا کم‌ترین حساسیت را نشان دادند.

واژه‌های کلیدی: خیار گلخانه‌ای، *Phytophthora capsici*، *Phytophthora drechsleri*، کهگیلویه و بویراحمد

مقدمه

در پی گسترش روزافزون کشت محصولات گلخانه‌ای به‌خصوص خیار گلخانه‌ای، بیماری‌های گلخانه‌ای به‌ویژه بوته‌میری گسترش زیادی یافته است که باعث از بین رفتن مقدار زیادی از این محصول شده است. خسارت به‌دست آمده از بوته‌میری بسته به گونه گیاه، گونه قارچ، درجه حرارت، میزان رطوبت خاک و... بسیار متغیر می‌تواند باشد.

اولین گزارش پوسیدگی طوقه و ریشه خیار در سال ۱۹۳۷ رخ داد که حدود ۳-۲ هکتار مزرعه خیار در ایالات متحده ۱۰۰ درصد از بین رفتند و عامل آن *P. capsici* تشخیص داده شد (کروتزر، ۱۹۳۷). هو و همکاران (۱۹۸٤) روی جدایه‌های فیتوفتورا از خیار آزمایش و آن‌ها را براساس خصوصیات ریخت‌شناسی به‌نام *P. drechsleri* شناسایی کردند. آن‌ها جدایه‌های خیار از ایران، ژاپن، تایوان و چین را تحت شرایط محیط کشت مشابه مقایسه و نتیجه‌گیری کردند که *P. drechsleri*، *P. melonis* و *P. sinensis* همه از نظر خصوصیات ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی مشابه هستند و تشابه دو گونه *P. drechsleri* و *P. melonis* بسیار زیاد است. هاس‌بک و لامور (۲۰۰٤) گونه *P. capsici* را به‌عنوان یک فاکتور محدودکننده خیار گلخانه‌ای در چند منطقه از ایالات متحده و میشیگان معرفی نمودند. همچنین پوسیدگی طوقه و ریشه خیار گلخانه‌ای در کشور نروژ توسط هرو (۲۰۰۸)، جنوب‌شرق اسپانیا توسط هرو و تلو (۲۰۰۲) و در مکزیک توسط فرناندز- پاویا و رودریگس (۲۰۰٦) مورد بررسی قرار گرفت و عامل آن *P. capsici* گزارش گردید که بیماری‌زایی آن را روی ارقام مختلف انجام دادند.

نصرالله‌نژاد و همکاران (۱۹۹۸) گونه‌های *P. drechsleri*، *P. cryptogea*، *P. nicotiana* و *P. capsici* را مولد پوسیدگی ریشه و طوقه کدوئیان در استان خوزستان ذکر کردند. مهم‌ترین عامل پوسیدگی ریشه و طوقه گیاهان جالیزی در مناطق مختلف ایران *P. drechsleri* معرفی گردید که گاهی خسارت آن در برخی از مزارع فارس تا حدود ۸۰ درصد گزارش شده است (خسرفر و بنی‌هاشمی، ۲۰۰٤). پلاچ و وبس‌تر (۱۹۷۲) گونه *P. capsici* را یک قارچی با پتانسیل بالا حتی در شرایطی با میزان کم‌مایه تلقیح معرفی نمودند. هاس‌بک و لامور (۲۰۰٤) در پژوهش‌های خود نشان دادند که میسیلیوم و اسپورانجیوم‌های *P. capsici* در شرایط رطوبتی و حرارتی ۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد باعث بیماری می‌شود. همچنین هرو (۲۰۰۸) دما و غلظت مایه تلقیح را در ایجاد و شدت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه توسط *P. capsici* امری مهم بیان کرد. نام‌برده ابتدا برای مایه‌زنی از دمای ۲٤ درجه سانتی‌گراد و سوسپانسیون اسپور قارچ (زئوسپور) با غلظت 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر استفاده نمود که اولین علایم بعد از ۱۸ روز ظاهر شد و برای مرتبه دوم از دمای ۲۹-۱۹ درجه سانتی‌گراد و غلظت 10^5 سوسپانسیون اسپور قارچ (زئوسپور) استفاده کرد که اولین علایم بعد از ۱ هفته مشاهده گردید.

خیار یکی از مهم‌ترین صیفی‌جات تحت کشت در استان است در سال‌های اخیر حدود ۱۳ هکتار گلخانه در شهرستان بویراحمد احداث شد که موجبات اشتغال و خودکفایی استان در تولید این محصول را فراهم ساخته است. در پی گسترش کشت این گیاه در گلخانه‌ها، بیماری بوته‌میری خیار نیز یکی از این بیماری‌هایی است که هر ساله خسارت زیادی به این محصول و به گلخانه‌داران وارد می‌نماید. بنابراین، باید پژوهشی در این‌باره انجام گیرد و با بررسی علل و عوامل بوته‌میری خیار، راه‌کارهایی مانند معرفی رقم مناسب خیار گلخانه‌ای ارایه گردد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری: طوقه و ریشه گیاهچه‌های مرده و یا در حال زوال گلخانه‌ها مناطق مختلف شهرستان کهگیلویه (چرام، دهدشت، لنده و سوق) و شهرستان گچساران (باشت، خان‌احمد، بوستان، شوش، سراب‌بیز و گچساران) نمونه‌برداری شد. همچنین از مجاور طوقه خیارهای آلوده نیز حدود ۱ کیلوگرم خاک برداشته شد و نمونه‌ها درون کیسه‌های نایلونی در صندوق دارای یخ به آزمایشگاه منتقل شدند.

در آزمایشگاه بافت‌های آلوده به‌مدت ۲-۱ ساعت 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

میلی‌مترمربع تقسیم شده با حوله کاغذی خشک گردید و بدون ضدعفونی سطحی روی محیط‌های کشت نیمه‌انتخابی CMA-PARP (عصاره ٤٠ گرم دانه ذرت خرد شده، ۲۰ میلی‌گرم دلواسید (دارای ۵۰ درصد پی‌مارسین)، ۲۵۰ میلی‌گرم آمپی‌سیلین، ۱۰ میلی‌گرم ریفامپیسین، ۱۰۰ میلی‌گرم پنتا کلرو نیترو بنزن، ۱۵ گرم آگار، ۱ لیتر آب مقطر) کشت داده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (کانویچر و میتچل، ۱۹۸۱).

برای مشاهده مقدماتی قارچ‌هایی که روی محیط کشت نیمه انتخابی CMA-PARP رشد کرده بودند تعدادی بذر گیاه شاه‌دانه که قبلاً به‌مدت ۲۰ دقیقه جوشانده و بعد کاملاً خشک شده بودند، روی پرگنه‌های جوان موردنظر قرار داده و بعد از ٢٤ ساعت در ۲۰ درجه سانتی‌گراد، به تشتک‌های پتری دارای آب مقطر سترون و عصاره خاک ۱ درصد منتقل و در زیر نور دایم مهتابی (۲ لامپ مهتابی ٤٠ واتی به فاصله ۳۰ سانتی‌متری) قرار داده شدند. بذرهای شاه‌دانه دارای میسلیوم قارچ بعد از ٢٤ ساعت تا مدت ۵-٤ روز جهت تشکیل اسپورانجیوم و رهاسازی زئوسپور جهت شناسایی قارچ (شناسایی مقدماتی جنس پی‌تیوم از فیتوفتورا) از گیاهان نمونه‌برداری شده مورد بررسی قرار گرفتند.

برای خالص‌سازی پرگنه‌ها به روش نوک ریسه، بلوک‌های میسیلیومی ٦-۵ میلی‌مترمربع از حاشیه پرگنه‌های جوان در حال رشد روی محیط کشت نیمه‌انتخابی CMA-PARP به محیط آب آگار ۲ درصد انتقال داده شد. بعد از ٤٨-٢٤ ساعت با استفاده از روش کشت نوک ریسه، قطعات جدا شده به محیط کشت نیمه‌انتخابی CMA-PARP انتقال یافتند. بعد از رشد ریسه‌ها و ایجاد پرگنه‌ها به‌منظور تشخیص قطعی جنس، دوباره با استفاده از بذور شاه‌دانه طعمه‌گذاری شدند (ریبرو، ۱۹۷۸).

برای جداسازی برخی گونه‌های *Phytophthora* از خاک از بذور گلرنگ (نبراسکا ۱۰) استفاده گردید (بنی‌هاشمی و میتچل، ۱۹۷٦). بذور گلرنگ در محلول ۰/۵ درصد هیپوکلریت سدیم به‌مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی سطحی گردید و آن‌گاه به‌مدت ۱۰-۵ دقیقه در زیر آب معمولی شسته شد، و سپس در ظروف یک‌بار مصرف دارای ورمی‌کولیت سترون در اتاقک رشد در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد مدت ۷-۵ روز قرار داده شد. بعد از رشد، گیاهچه‌های گلرنگ به گلدان‌های پلاستیکی دارای خاک سترون انتقال داده شدند. بر روی خاک‌های سترون دارای گیاهچه‌های گلرنگ خاک‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ریخته شد. در صورت وجود قارچ فیتوفتورا، بعد از ۷-۳ روز علایم آلودگی به‌صورت قهوه‌ای شدن طوقه و سپس واژگون شدن گیاهچه گلرنگ ظاهر می‌گردد. برای جداسازی، طوقه گیاهچه‌های آلوده گلرنگ بعد از شستشو زیر شیر آب به قطعات چند میلی‌متری

تقسیم و روی حوله‌های کاغذی خشک و سپس بر روی محیط نیمه‌انتخابی CMA-PARP کشت داده می‌شود. بعد از ظهور پرگنه‌های جدید نسبت به تشخیص آن‌ها از دانه‌های شاه‌دانه استفاده می‌شود.

تشخیص گونه: برای تشخیص گونه‌ها بعد از خالص‌سازی، براساس خصوصیات ریخت‌شناسی اندام‌های رویشی، تولیدمثلی و دماهای رشد و با استفاده از کلیدهای موجود اقدام شد (اروین و ریبرو، ۱۹۹٦؛ واترهوس، ۱۹٦۳؛ واترهوس، ۱۹۷۰).

تعیین واکنش ارقام مختلف خیار به دو گونه *P. drechsleri* و *P. capsici*

- **تولید ارقام مختلف خیار:** برای پرورش گیاهچه، بذور ارقام مختلف (مهر، بهمن، نگین، کلوز، سینا، فادیا و کاترینا) تهیه شد و بعد از ۱۲ ساعت خیساندن، در گلدان‌های پلاستیکی در شرایط گلخانه کشت داده شدند. گلدان‌ها تا عمق ۱۰ سانتی‌متری با خاک لومی رسی سترون پُر شدند. بعد از آبیاری در هر گلدان دو بذر از یک رقم گیاه کاشته و روی آن به ارتفاع ۰/۵ سانتی‌متر خاک ریخته شد.

- **تهیه مایه قارچ:** در کیسه‌های پلاستیکی مقاوم به اتوکلاو، ۲۰۰ میلی‌لیتر ورمی‌کولیت ریخته شد و به آن ۱۲۰ میلی‌لیتر عصاره شاه‌دانه (عصاره ٦۰ گرم بذر شاه‌دانه در لیتر) اضافه شد و به‌مدت ۱ ساعت در اتوکلاو سترون گردید. ۳-۲ روز بعد از آن، از پرگنه جدایه موردنظر، که قبلاً روی محیط کشت نیمه‌انتخابی CMA-PARP رشد کرده بودند، ۸ بلوک میسلیومی به قطر ٦ میلی‌متر به کیسه‌های پلاستیکی اضافه گردید. سپس کیسه‌های پلاستیکی به‌مدت ٤ هفته در ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی قرار داده شدند (بنی‌هاشمی و فاتحی، ۱۹۸۹).

- **مایه‌زنی گیاهچه‌های خیار:** از گیاهچه‌های ۲ هفته خیار برای مایه‌زنی استفاده گردید. خاک اطراف هر گیاهچه تا عمق ۳ 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 زه‌آب گلدان‌ها با پارافین جامد بسته شده، خاک گلدان‌ها با آب اشباع گردید. بعد از ۲٤ ساعت سوراخ زه‌آب باز گردید و آب گلدان‌ها در لیوان‌های پلاستیکی جمع‌آوری شد و از برگ لیموشیرین دایره‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر جدا و ۵۰ عدد از آن‌ها در هر نمونه زه‌آب قرار داده شد. بعد از ۲٤ ساعت نگهداری در محیط آزمایشگاه، قطعات برگ به‌مدت ۱ دقیقه با جریان آب معمولی شستشو داده شد و بعد از خشک شدن آن‌ها روی دستمال کاغذی، به محیط کشت نیمه‌انتخابی CMA-PARP منتقل گردید. تشتک‌های پتری در ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای مشاهده رشد قارچ، تشتک‌های پتری روزانه مورد

بررسی قرار گرفتند. بعد از ظهور پرگنه‌ها و مشاهده‌های اولیه میکروسکوپی از بذور شاه‌دانه استفاده گردید. این عمل هر ۲ هفته یک‌بار انجام شد (افک و همکاران، ۱۹۹۰؛ برون و همکاران، ۱۹۹۵؛ بیلین و جونس، ۱۹۸۸a، بیلین و جونس، ۱۹۸۸b؛ ریستانیو و دانی‌وی، ۱۹۸۹) گیاهچه‌ها در فاصله‌های بین غرقابی و در موقع لزوم با آب لوله، آبیاری شدند.

گیاهان شاهد نیز به همین روش، با ورمی‌کولیت دارای عصاره شاه‌دانه مایه‌زنی شدند. برای هر تیمار ۱۰ گلدان (هر گلدان دارای ۲ گیاهچه) در نظر گرفته شد. بعد از ۲ هفته، گیاهچه‌ها از خاک خارج شده، مورد بررسی قرار گرفتند. آزمایش در قالب طرح 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 ۱ درصد صورت پذیرفت.

نتیجه و بحث

شناسایی عوامل بیمارگر: براساس نمونه‌برداری‌هایی که از اوایل بهار تا اواخر شهریور سال ۱۳۸۸ در گلخانه‌های شهرستان کهگیلویه (چرام، دهدشت، لنده و سوق) و شهرستان گچساران (باشت، خان‌احمد، بوستان، شوش و سراب‌بیز) انجام گرفت، ٤٠ جدایه از بافت‌های طوقه و ریشه خیار به‌دست آمد (جدول ۱). از خاک‌های جمع‌آوری شده مجاور طوقه خیارهای آلوده با استفاده از بذور گلرنگ، گونه‌ای جدا نگردید. این جدایه‌ها براساس خصوصیات مختلف ریخت‌شناسی و میزان رشد در دماهای مختلف در دو گروه مجزا قرار گرفتند.

در گروه اول (جدایه‌های ۱۷-۱)، پرگنه‌ها روی محیط کشت‌های آگاردار رشد نسبتاً سریع داشتند. اسپورانجیوم‌ها ۱، ۲ و به‌ندرت ۳ پاپیل بزرگ نیم‌کروی و غیرریزان بوده و به شکل تخم‌مرغی و یا گلابی وارونه دیده شدند. متوسط ابعاد آن‌ها ٤٢/٥٣×٢٨/٤٥ میکرومتر بود. اسپورانجیوفورها ظریف بودند و در برخی موارد در زیر اسپورانجیوم تا اندازه‌ای عریض‌تر شدند. و بدون آماس ریسه‌ای بودند. تمام جدایه‌ها هتروتالیک بودند. اُگونیوم‌ها به شکل کروی و با دیواره صاف بوده و به‌صورت انتهایی بودند. آنتریدیوم‌ها آمفیژن بیضوی، تخم‌مرغی و به‌صورت میانی یا انتهایی بودند. اُاُسپور کروی، دارای دیواره صاف و بدون تزئینات بوده که تقریباً تمام فضای اُاُگونیوم را پُر نمود[1] (شکل ۱). دماهای ویژه شامل حداقل ۷/۵ درجه

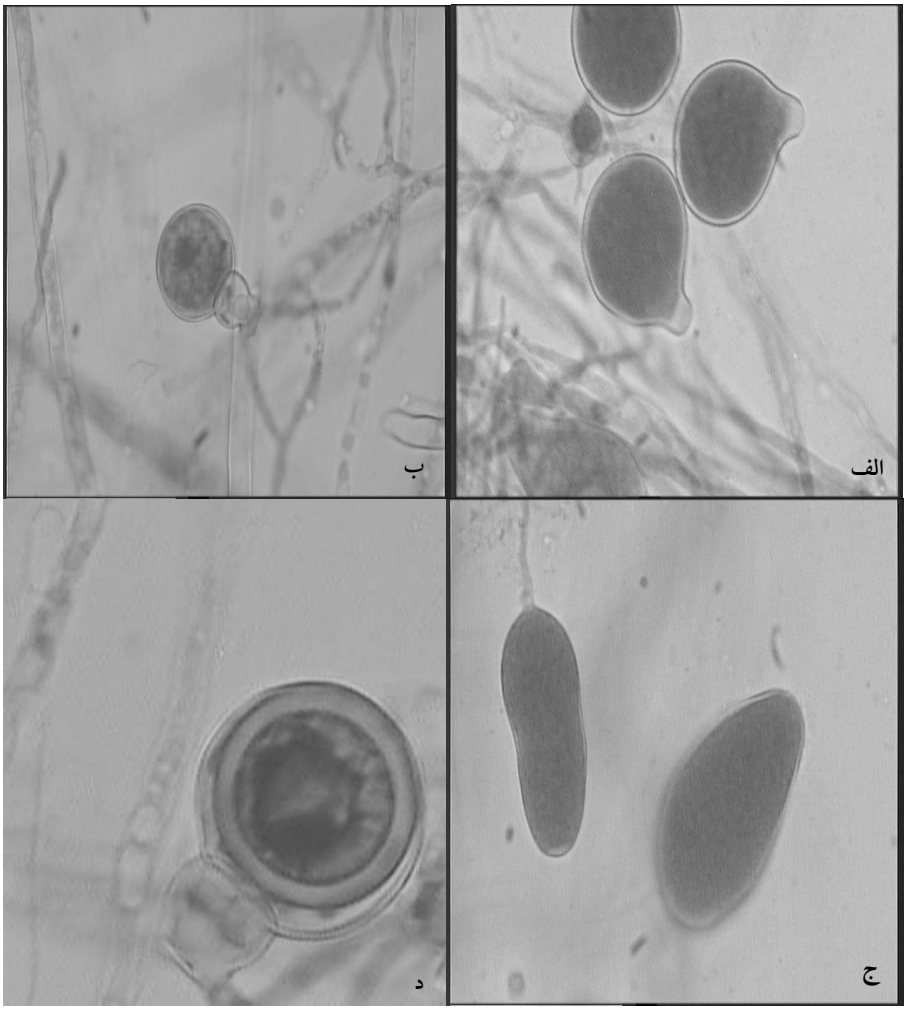
1- Plerotic

سانتی‌گراد، مطلوب ۳۰ درجه سانتی‌گراد و حداکثر ۳۵ درجه سانتی‌گراد بود. جدایه‌ها این گروه *P. cpsici* تشخیص داده شد (اروین و ریبرو، ۱۹۹٦؛ واترهوس، ۱۹٦۳؛ واترهوس، ۱۹۷۰).

در گروه دوم (جدایه‌های ٤۰-۱۸)، پرگنه‌ها در بیش‌تر جدایه‌ها روی محیط‌های کشت ذرت- آگار[1] و بذر شاه‌دانه- آگار[2] تولید ریسه‌های تخت و بی‌شکل نمودند. پرگنه‌ها در محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار[3]، دارای الگوی رشدی شبیه گل رز بودند. در این گروه اسپورانجیوم‌ها به سختی در محیط مایع تشکیل شدند و فقط با استفاده از محیط کشت‌های اختصاصی و یا ترکیبی از دو محیط کشت مختلف اسپورانجیوم‌ها در محیط مایع تشکیل شدند ولی در محیط جامد و در محیط کشت اختصاصی بذر شاه‌دانه- آگار دارای بتاسیتوسترول اسپورانجیوم‌ها به فراوانی به‌وجود آمدند. اسپورانجیوم‌ها بدون پاپیل، غیرریزان، انتهایی و به شکل گلابی عریض تا کشیده در پایه اکثراً گرد، و دارای رشد داخلی اسپورانجیومی (افژولی[4]) بودند. متوسط ابعاد آن‌ها ۲۱/۲۳×۳٤/۳ میکرومتر بود. اسپورانجیوفورها ظریف بوده که در برخی موارد در زیر اسپورانجیوم تا اندازه‌ای عریض‌تر شدند و دارای آماس ریسه‌ای بودند. تمام جدایه‌ها هتروتالیک بودند. اُاُگونیوم‌ها به شکل کروی و با دیواره صاف بوده و به‌صورت انتهایی تشکیل شدند. آنتریدیوم‌ها آمفیژن کروی تا سیلندری بودند. اُاُسپورها کروی، دارای دیواره صاف و بدون تزئینات بودند و تقریباً تمام فضای اُاُگونیوم را پُر نمودند (شکل ۱). دماهای ویژه شامل حداقل ۵ درجه سانتی‌گراد، مطلوب ۲۵ درجه سانتی‌گراد و حداکثر ٤۰ درجه سانتی‌گراد بود. جدایه‌های این گروه *P. drechsleri* تشخیص داده شد (اروین و ریبرو، ۱۹۹٦؛ واترهوس، ۱۹٦۳؛ واترهوس، ۱۹۷۰).

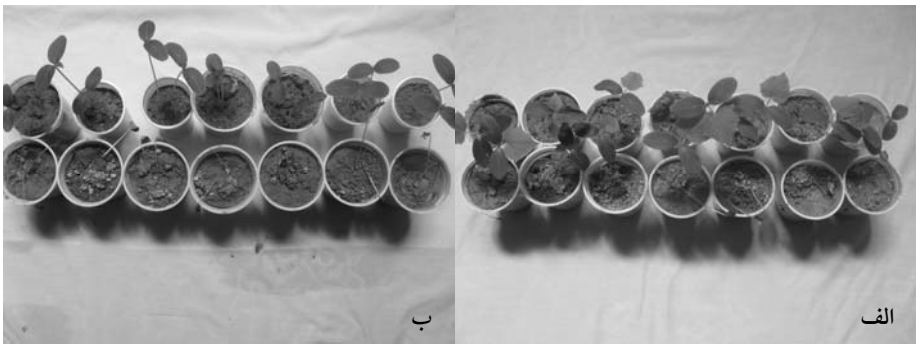
در این مطالعه گونه‌های *P. capsici* و *P. drechsleri* از ریشه و طوقه پوسیده در گلخانه‌های خیار جداسازی گردید و این نتایج تا حدودی با نتایج هاس‌بک و لامور (۲۰۰٤) و توسط هرو (۲۰۰۸) و هو و همکاران (۱۹۸٤) مطابقت دارد و آن‌ها گونه‌های *P. capsici* و *P. drechsleri* را از خیارهای که دچار پوسیدگی ریشه و طوقه شده بودند جدا نموده و بیماری‌زایی آن‌ها را اثبات کردند.

1- CMA
2- HSA
3- PDA
4- Proliferation



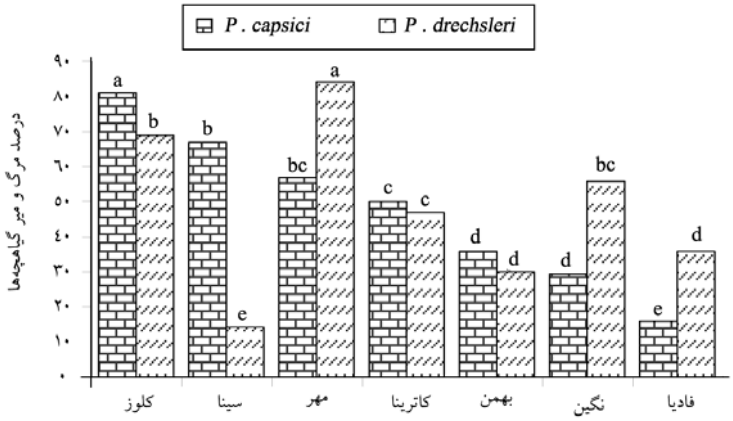
شکل ۱- *P. drechsleri*: الف) اسپورانجیوم‌های بدون پاپیل (×۶۳۰)، ب) اُاُگونیوم و آنتریدیوم (×۶۳۰)
***P. capsici*: ج) اسپورانجیوم‌های پاپیل‌دار (×۶۳۰)، د) اُاُگونیوم و آنتریدیوم (×۶۳۰).**

عکس‌العمل ارقام خیار به دو گونه *P. capsici* و *P. drechsleri*: اولین علایم بیماری ۱ هفته بعد از مایه‌زنی مشاهده گردید. تمام ارقام خیار در اثر مایه‌زنی با دو گونه *P. capsici* و *P. drechsleri* علایم پوسیدگی طوقه و ریشه را نشان دادند اما واکنش ارقام به این گونه‌های بیمارگر متفاوت بود (شکل ۲).



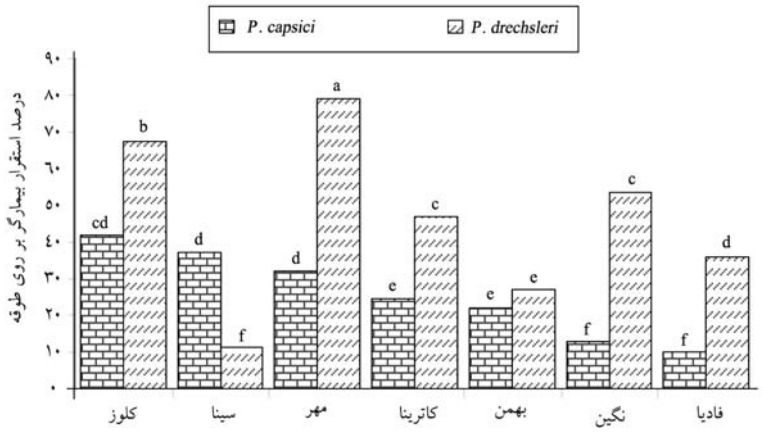
شکل ۲- الف) *P. capsici* (سمت راست) *P. drechsleri* (سمت چپ): علایم پوسیدگی ریشه و طوقه به‌ترتیب در ارقام بهمن، نگین، کلوز، مهر، سینا، فادیا و کاترینا.

سنجش بیماری‌زایی ارقام مختلف خیار با دو گونه *P. drechsleri* و *P. capsici* در شرایط گلخانه روی گیاهچه‌های ۱٤ روزه انجام شد. نتایج بررسی‌ها در شرایط گلخانه و تجزیه و تحلیل داده‌ها براساس اندازه‌گیری درصد مرگ و میر (شکل ۳) نشان داد که ارقام مختلف واکنش‌های متفاوتی نسبت به گونه‌های بیماری‌زا نشان می‌دهند. ارقام کاترینا و بهمن در مقابل هر دو گونه قارچ تفاوت معنی‌داری ندارند. اما بقیه ارقام در مقابل هر دو گونه قارچ اختلاف معنی‌داری از خود نشان دادند. رقم مهر و سینا به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین حساسیت به گونه *P. drechsleri* و رقم کلوز و فادیا به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین حساسیت به گونه *P. capsici* نشان دادند.



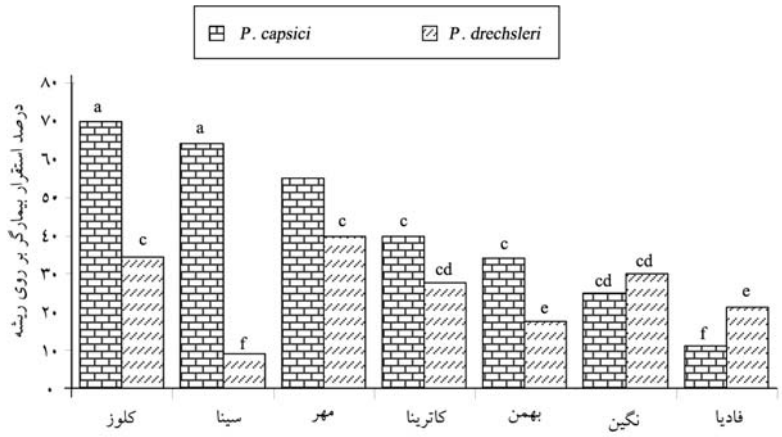
شکل ۳- مقایسه اثرات متقابل ارقام مختلف با دو گونه *P. capsici* و *P. drechsleri* بر روی درصد مرگ و میر با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد.

مقایسه درصد استقرار بیمارگر بر روی طوقه (شکل ٤) نشان داد ریسه‌های گونه *P. drechsleri* نسبت به گونه *P. capsici* با سرعت زیادی قادر به پیش‌روی و آلوده نمودن طوقه گیاهچه‌های خیار در گلخانه داشتند. رقم‌های مهر و سینا به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین حساسیت را به گونه *P. drechleri* و رقم کلوز بیش‌ترین و رقم‌های نگین و فادیا کم‌ترین حساسیت را نسبت به گونه *P. capsici* از خود نشان دادند.



شکل ٤- مقایسه اثرات متقابل ارقام مختلف با دو گونه *P. capsici* و *P. drechsleri* بر روی درصد استقرار بیمارگر بر روی طوقه با استفاده ار آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد.

مقایسه درصد استقرار بیمارگر بر روی ریشه (شکل ۵) نشان داد ریسه‌های گونه *P. capsici* نسبت به گونه *P. drechsleri* با سرعت بیش‌تری قادر به پیش‌روی و آلوده نمودن ریشه گیاهچه‌های خیار در گلخانه بودند. ارقام کلوز، مهر، کاترینا و نگین حساسیت یکسانی به گونه *P. drechsleri* دارند زیرا تفاوت معنی‌داری بین این ارقام نسبت به این بیمارگر وجود ندارد. و رقم سینا کم‌ترین حساسیت به این بیمارگر دارد. ارقام کلوز و سینا بیش‌ترین حساسیت و رقم فادیا کم‌ترین حساسیت را به گونه *P. capsici* نشان داد.



شکل ۵- مقایسه اثرات متقابل ارقام مختلف با دو گونه *P. capsici* و *P. drechsleri* بر روی درصد استقرار بیمارگر بر روی ریشه با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد.

در این پژوهش فقط گونه‌های *P. capsici* و *P. drechsleri* جداسازی شد در حالی‌که به غیر از این گونه‌ها ممکن است گونه‌های دیگری نیز در گلخانه‌ها وجود داشته باشند، که جدا نگردیده‌اند. این نبود جداسازی عامل بیماری نشانگر نبود قارچ در خاک نیست، نبود موفقیت در جداسازی عامل بیماری احتمالاً به‌علت کاهش زادمایه قارچ در رابطه با تغییر عوامل ناشناخته محیطی خاک تصور می‌شود. بنابراین استفاده از محیط‌های انتخابی و روش‌های جداسازی متفاوت باید در آینده به‌کار گرفته شود.

در این بررسی بیش‌تر جدایه‌های به‌دست آمده از هر دو بافت طوقه و ریشه جداسازی شدند (جدول ۱). خسروفر و بنی‌هاشمی (۲۰۰٤) در پژوهش‌های خود نشان دادند که در ابتدای شروع بیماری طوقه حساس‌ترین قسمت گیاه می‌باشد اما اگر روش آبیاری به‌نحوی باشد که آب در تماس مستقیم با طوقه نباشد، پوسیدگی ریشه اصلی و محل انشعاب ریشه‌های فرعی موجب سبز خشکی بوته‌ها در مراحل پیشرفته رشد خواهند شد. براساس این پژوهش در برخی گلخانه‌ها قارچ فیتوفتورا فقط از قسمت طوقه جداسازی گردید و این با یافته خسروفر و بنی‌هاشمی (۲۰۰٤) مطابقت دارد.

جدول ۱- مناطق جداسازی جدایه‌های *P. capsici* و *P. drechsleri* از خیار گلخانه‌ای در جنوب استان کهگیلویه و بویراحمد.

شماره جدایه‌ها	محل جمع‌آوری	محل جداسازی
۱ و ۲	شهرستان کهگیلویه (چرام)	طوقه
۳ و ٤	شهرستان کهگیلویه (دهدشت)	طوقه و ریشه
٥، ٦ و ۷	شهرستان گچساران (باشت)	طوقه و ریشه
۸، ۹ و ۱۰	شهرستان گچساران (بوستان)	طوقه و ریشه
۱۱، ۱۲، ۱۳ و ١٤	شهرستان گچساران (شوش)	طوقه و ریشه
۱٥، ١٦ و ۱۷	شهرستان کهگیلویه (لنده)	طوقه
۱۸، ۱۹، ۲۰ و ۲۱	شهرستان کهگیلویه (سوق)	طوقه و ریشه
۲۲، ۲۳، ٢٤ و ۲٥	شهرستان کهگیلویه (چرام)	طوقه و ریشه
٢٦، ۲۷ و ۲۸	شهرستان گچساران (سراب‌بیز)	طوقه و ریشه
۲۹، ۳۰ و ۳۱	شهرستان گچساران (باشت)	طوقه
۳۱، ۳۲، ۳۳ و ۳٤	شهرستان گچساران (خان‌احمد)	طوقه و ریشه
۳٥، ۳٦ و ۳۷	شهرستان کهگیلویه (دهدشت)	طوقه و ریشه
۳۸، ۳۹ و ٤۰	شهرستان کهگیلویه (لنده)	طوقه و ریشه

بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه خیار در گلخانه‌های خیار در اوایل کشت اغلب مشاهده می‌شد. معمولاً بعد از پوسیدگی، گیاهچه‌های مورد حمله انواع میکروارگانیسم‌های پوده‌زیست یا انگل ضعیف قرار می‌گیرد، وجود این عوامل باعث ناموفق بودن نسبی جداسازی می‌گردد و حضور بیمارگرهای اصلی کم‌تر مورد توجه قرار گیرد به‌صورتی‌که رشد کُند بیمارگرهای اصلی که با تاخیر نسبت به سایر قارچ‌ها صورت گرفته، در اغلب موارد غیرقابل تشخیص می‌گردد. در نتیجه استفاده از محیط کشت‌های اختصاصی تا مقدار زیادی این مشکل را بر طرف می‌نماید.

استفاده از روش تنش آبی بعد از مایه‌زنی قارچ عامل بیماری به گیاهچه‌های خیار، کارایی بیماری‌زایی را افزایش داد. زیرا تنش آب می‌تواند به غشای گیاهی صدمه بزند و باعث افزایش آزادسازی اسیدهای آمینه از ریشه گردد. افزایش ترشحات ریشه نیز منجر به افزایش جذب زئوسپورهای متحرک به‌سمت ریشه می‌گردد. از طرفی تنظیم فشار اسمزی در بافت ریشه و یا افزایش در جابه‌جایی کربن به ریشه‌های تحت تنش آب، ممکن است محرکی جهت افزایش رشد و کلونیزه

کردن ریشه‌ها باشد (ریستانیو و دانی‌وی، ۱۹۸۹). تنش آب باعث کاهش تولید فیتوالکسین‌ها شده، مقاومت گیاه را در برابر بیمارگر کاهش می‌دهد در نتیجه گیاه را نسبت به بیمارگرهای مختلف حساس‌تر می‌کند (اروین و ریبرو، ۱۹۹٦).

در این پژوهش سعی شد حرارت گلخانه در زمان مایه‌زنی گیاهچه‌های ١٤ روزه خیار بین ۲۸-۲۲ درجه سانتی‌گراد باشد. زیرا در دماهای پایین میزان آلودگی بسیار کم می‌باشد و این نتایج با نتایج هرو (۲۰۰۸) تا حدود زیادی مطابقت دارد. ایشان تأثیر دما را در ایجاد و شدت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه ناشی از *P. capsici* مورد بررسی قرار داد و به این نتیجه رسید که ظهور علایم بعد از مایه‌زنی در دمای ٢٤ درجه سانتی‌گراد بعد از ۱۸ روز و در دمای ۲۹-۱۹ درجه سانتی‌گراد بعد از ۱ هفته مشاهده می‌گردند.

منابع

1.Abbasi, P.A. and Lazarovits, G. 2006. Seed treatment with phophonate (AG3) suppresses *Pythium* damping-off of cucumber seedling. Plant Dis. 90: 459-464. (In Persian)

2.Afeck, U., Sztejnberg, A. and Solel, Z. 1990. A rapid method for evaluating citrus seedlings for resistance to foot rot caused by *Phytophthora citrophthora*. Plant Dis. 74: 66-68. (In Persian)

3.Banihashemi, Z. and Fatehi, J. 1989. Reaction of cucurbit cultivars to *Phytophthora drechsleri* and *P. capsici* in greenhouse. Proc. 9th. Plant. Prot. Cong. Mashhad, Iran, 89p. (In Persian)

4.Bielenin, A. and Jones, A.L. 1988a. Prevalence and pathogenicity of *Phytophthora* spp. from sour cherry trees in Michigan. Plant Dis. 72: 473-474.

5.Bielenin, A. and Jones, A.L. 1988b. Efficacy of sprays of fosetyl-Al and drench of metalaxyl for the control of *Phytophthora* root and crown rot of cherry. Plant Dis. 72: 477-480.

6.Browne, G.T., Mircetich, S.M. and Cummins, J.N. 1995. Relative resistance of eighteen selection of *Malus* spp. to three species of *Phytophthora*. Phytophthol. 85: 72-76.

7.Chen, M.H. and Nelson, E.B. 2008. Seed-colonizing microes from Municipal biosolids compost suppress *Pythium ultimum* damping-off on different plant species. Phytopathol. 98: 1012-1018.

8.Erwin, D.C. and Ribeiro, O.K. 1996. *Phyophthora* Diseases World Wide. APS Press. St. Paul, Minn. 562p.

9.Fernandez-Pavia, S.P. and Rodriguez, G. 2006. First Report of *P. capsici* causing wilt on hydropronically grown cucumber in Mexico. Plant Dis. 90: 12. 1552.

10.Gevens, A.J., Ando, K., Lamour, K.H., Grumet, R. and Hausbeck, M.K. 2006. A detached cucumber fruit method to screen for resistance to *Phytophthora capsici* and effect of fruit age on susceptibility to infection. Plant Dis. 90: 1276-1282.
11.Hausbeck, M.K. and Lamour, K.H. 2004. *Phytophthora capsici* on vegetable crops: Research progress and management challenges. Plant Dis. 88: 1292-1303.
12.Herrero, M.L. 2008. First report of crown and root rot caused by *Phytophthora capsici* on hydrponically grown. Cucumbers in Norway. Plant Dis. 92: 1138.
13.Herrero, M.L. and Tello, J.C. 2002. First Report of *P. capsici* on cucumber in southeastern spain. Plant Dis. 86: 5. 558.
14.Ho, H.H., Lu, J.Y. and Gong, L.Y. 1984. Mating types of heterothallic species of *Phytophthora* in China. II. Acta Mycol. Sin. 3: 29-32.
15.Howard, R.J., Garland, J.A. and Seaman, W.L. 1994. Diseases and Pests of Vegetable Crops in Canada. The Canadian Phytopathological Society and Entomological Society of Canada, Ottawa, ON, Canada.
16.Kannwischer, M.E. and Mitchell, D.J. 1981. Relationships of numbers of spores of *Phytophthora parasitica* var *nicotianae* to infection and mortality of tobacco. Phytophthol. 71: 69-73.
17.Katsura, K. 1968. *Phytophthora melonis* n. sp. of cucumber. Ann. Phytopathol. Soc. Japan, 34: 167. (In Japanese with English summary)
18.Khosrowfar, F. and Banihashemi, Z. 2004. Role of weeds on the survival of *verticillium dahliae* the causal agent of cotton vascular wilt in Fars province. Iran. J. Plant Pathol. 40: 1-2. 105-126. (In Persian)
19.Kreutzer, W.A. 1937. A *Phytophthora* rot of cucumber fruit. Phytopathol. 27: 955.
20.Nasrollah-Negad, S., Alizadeh, A. and Banihashemi, Z. 1998. Identiication of Phytophthora species the causal agents of cucurbit root and crown rot in Khuzestan Province. 179. Proc. 13th. Plant. Proc. Cong. Karaj, Iran, 179p. (In Persian)
21.Polach, F.J. and Webster, R.K. 1972. Identificationof strains and inheritance of pathogenicityin *Phytophthora capsici*. Phytopathol. 62: 20-26.
22.Ribeiro, O.A. 1978. Source Book of the Genus *Phytophthora*. J.Cramer, Vanuz, Liechtenstein, 417p.
23.Ristaino, J.B. and Duniway, J.M. 1989. Effect of pre-inoculation and post-inoculation water stress on the severity of Phytophthora root rot in processing tomato. Plant Dis. 73: 349-352.
24.Waterhouse, G.M. 1963. Key to the Genus *Phytophthora* deBary. C.M.I. Mycol. 92p.
25.Waterhouse, G.M. 1970. The Genus *Phytophthora* deBary. Diagnosis or description and figures of the original paper. C.M.I. Mycological. 12: 259.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Plant Production, Vol. 18(3), 2011
www.gau.ac.ir/journals

Isolation and identification of *Phytophthora* species on greenhouse cucumber in Southern Kohgiluyeh and Boyerahmad province and evaluation of relative resistance of greenhouse cucumber cultivars to them

***F. Ghaderi[1], Sh. Askari[2] and M. Abdollahi[3]**
[1]Instructor, Dept. of Plant Protection, University of Yasouj, [2]B.Sc., Dept. of Plant Breeding, Agriculture office, Yasouj, [3]Assistant Prof., Dept. of Plant Protection, University of Yasouj
Received: 2010/10/25; Accepted: 2011/05/16

Abstract

In order to study the role of *Phytophthora* species associated with greenhouse cucumber root and crown rot, diseased sampled were collected in Southern Kohgiluyeh and Boyerahmad province. Pieces of infected root and crown of cucumber were washed with tap water blotted dry and plated on CMA supplemented with delvocid (10 ppm pimarcin), ampicillin (250 ppm), rifampicin (10 ppm) and PCNB (150 ppm). 40 isolates recoverd from various parts in Southern Kohgiluyeh and Boyerahmad province. Colonies on the selective medium based on morphological characters produced and temperature requirement, the pathogen were identified as *Ph. capsici* and *Ph. drechsleri*. Seventeen isolates were identified as *Ph. capsici* and 23 isolates were identified as *Ph. drechsleri*. The reaction of crown and root of 2-week-old greenhouse cucumber cultivars, Mehr, Bahman, Fadia, Close, Negin, Katrina and Cina to virulent isolates of *Ph. c*apsici and *Ph. drechsleri* was evaluated under greenhouse conditions. The inoculum was obtained on vermiculite-hemp seed extract and positioned around either crown or root systems. Percent dead seedlings and crown and root colonization were evaluated. Comparative percent dead seedlings and crown colonization showed that Mehr and Cina were the most and the least susceptible cultivar in reaction to *Ph. drechsleri*, also Close and Fadia were the most and the least susceptible cultivar in reaction to *Ph. capsici*. Comparative percent root colonization showed that Close, Katrina, Mehr and Negin cultivars were not significantly different in reaction to *Ph. drechsleri*. Cina cultivar was the least susceptible in reaction to *Ph. drechsleri*, Also Close and Cina cultivars were the most susceptible and Fadia cultivar was the least susceptible in reaction to *Ph. capsici*.

Keywords: Greenhouse cucumber, *Phytophthora drechsleri*, *Phytophthora capsici*, Kohgiluyeh and Boyerahmad

* Corresponding Author; Email: fghaderi2003@yahoo.com