

بیماری کپک خاکستری خیار گلخانه‌ای

موسی نجفی‌نیا*

استادیار بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی جنوب استان کرمان

* رایانامه‌ی نویسنده‌ی مسئول: m.najafinia@areeo.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۷/۹/۱۱

تاریخ دریافت: ۹۷/۶/۱۸

چکیده

محصولات گلخانه‌ای در جنوب استان کرمان دارای اهمیت خاصی است. طی بازدیدهایی که از گلخانه‌ها بعمل آمد نوعی پوسیدگی میوه و ساقه خیار مشاهده شد. آلودگی از قسمت گلگاه شروع و به سمت دم میوه پیشرفت می‌نماید. میوه‌های آلوده سپس نرم و آب زده شده و در مرز پیشرفت بیماری علائم زردی مشاهده می‌شود. سطح بافت آلوده از نوعی کپک خاکستری رنگ پوشیده شده و پس از مدتی اسکلرت‌های قارچ به اشکال گرد تا بیضوی یا نا منظم، سیاه رنگ، به اندازه‌های متفاوت (۳ تا ۱۵ میلی متر) روی سطح آلوده تشکیل گردید. علائم روی ساقه و دم‌برگ خیار نیز مشاهده شد. بافت آلوده پس از ضدعفونی، روی محیط پی‌دی‌ای^۱ کشت و جدایه‌ها خالص گردید. پرگنه قارچ به رنگ خاکستری مایل به قهوه‌ای با ریشه‌های ضخیم و به قطر ۷/۵-۵ میکرومتر دیده شد. پس از گذشت ۲۵ تا ۳۰ روز اسکلرت‌ها روی محیط کشت به رنگ سیاه و به قطر ۰/۵ تا ۴ میلی متر تشکیل گردید. کنیدی‌ها بیضوی، شفاف و بی‌رنگ تا قهوه‌ای به اندازه ۷-۱۷/۵ × ۱۰-۵ میکرومتر روی کنیدیوفورهای بلند و کشیده به طول ۱-۱/۵ میلی‌متر و به قطر ۷/۵-۱۵ میکرومتر، منشعب و غالباً دارای یک پایه صاف بودند. بیماری‌زایی جدایه‌ها با ریختن یک میلی‌لیتر سوسپانسیون ۱۰^۶ اسپور در میلی‌لیتر روی میوه خیار و ایجاد زخم انجام گردید. شاهد با آب مایه زنی شد. عامل بیماری، قارچ *Botrytis cinerea* تشخیص داده شد. در منطقه جیرفت این قارچ از خیار، توت فرنگی، فلفل، بادمجان، و گوجه فرنگی جداسازی و شناسایی گردید.

واژه‌های کلیدی: بیماری، کپک خاکستری، گلخانه.

^۱ PDA

مقدمه

کشت گیاهان گلخانه‌ای به ویژه خیار، توت فرنگی، گوجه فرنگی و فلفل در ایران و بخصوص منطقه جیرفت و کهنوج از اهمیت خاصی برخوردار است. با توجه به شرایط خاص گلخانه، عوامل بیماری‌زای متعددی باعث ایجاد خسارت می‌شوند. پوسیدگی خاکستری خیار با عامل *Botrytis cinerea* Pers یکی از بیماری‌های مهم و خطرناک بخصوص در نواحی معتدل و خنک نظیر ژاپن، شمال آمریکا، کانادا و انگلیس می‌باشد (آنا، ۱۹۹۱)^۱. این قارچ قادر است روی گیاهان مختلف ایجاد بیماری‌هایی نظیر بلایت شکوفه، مرگ گیاهچه، پوسیدگی یا شانکر ساقه، لکه برگ، پوسیدگی غده، کورم، پیاز، ریشه و غیره نماید و دارای دامنه میزبانی بسیار وسیعی است (آنا، ۱۹۹۱). قارچ بوتریتیس از مهم‌ترین بیمارگرهای غده‌ها، میوه‌ها، برگ‌ها و گل‌ها در گیاهان زینتی، سبزی‌ها و دیگر محصولات مهم کشاورزی با گسترش جهانی است و با ایجاد کپک خاکستری از مهم‌ترین عوامل پوسیدگی‌های پس از برداشت محسوب می‌شود (الاد و همکاران، ۲۰۱۵)^۲. در فرانسه از روی خربزه و در فلسطین اشغالی از روی کدو گزارش شده و ایجاد خسارت می‌کند (آنا، ۱۹۹۱) این قارچ در سال ۱۹۹۲ از ژاپن و از روی گیاهان ابریشم، بادمجان، خیار و فلفل گزارش گردیده است (آرای، ۱۹۹۳)^۳. در آمریکا عامل بیماری پوسیدگی خاکستری سیب‌زمینی، قارچ *B. cinerea* معرفی شده است (گای و همکاران، ۱۹۹۰)^۴. این قارچ هم‌چنین به عنوان عامل بیماری‌زا

روی گوجه‌فرنگی، گیاهان خانگی و گلخانه‌ای در آمریکا، انگلیس و هلند گزارش گردیده است. در کشورهای آمریکا، انگلیس، اسرائیل، هلند، ایتالیا، اسپانیا و نیوزیلند گزارش شده که این قارچ غالباً همراه با بیماری اسکروتینیایی دیده می‌شود (الاد و یونس، ۱۹۹۳)^۵. پوسیدگی خاکستری کلم ناشی از قارچ *B. cinerea* از انگلیس، هلند، فنلاند، شوروی سابق، آلمان غربی، کانادا و بخشی از آمریکا گزارش شده است (فریک و کراگ، ۱۹۹۷)^۶. این قارچ هم‌چنین به عنوان عامل بیماری‌زا روی آسپارگوس در نیوزیلند گزارش شده است. در کانادا، شوروی سابق، انگلیس و کشورهای اسکاندیناوی قارچ *B. cinerea* به عنوان عامل بیماری پوسیدگی خاکزی هویج معرفی شده است (یونس و همکاران، ۱۹۹۰)^۷؛ فریک و کراگ، ۱۹۹۷). در منطقه جنوب استان کرمان تاکنون تحقیقی در این خصوص انجام نشده است. ضروری به نظر می‌رسد قبل از دستیابی به راه حل کنترل مناسب، تشخیص دقیق عوامل ایجاد کننده بیماری پوسیدگی خاکستری خیار صورت پذیرد، این تحقیق به منظور دستیابی به هدف فوق صورت پذیرفته است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

به منظور شناسایی عامل پوسیدگی خاکستری محصولات گلخانه‌ای و با تاکید بیشتر بر خیار، گلخانه‌های متعددی در منطقه جیرفت بصورت تصادفی مورد بازدید قرار گرفت. نمونه‌های خیار، فلفل، توت فرنگی، بادمجان و گوجه فرنگی دارای

¹ Anna² Elad et al³ Arai⁴ Ghai et al⁵ Elad and Yunis⁶ Frick and Krug⁷ Yunis et al

به منظور اثبات بیماری زایی جدایه‌های بدست آمده، سوسپانسیون 10^6 اسپور در میلی‌لیتر تهیه و به دو روش مایه‌زنی انجام شد. در روش اول، روی بوته دارای میوه جوان، ابتدا سطح میوه با الکل ضدعفونی سطحی گردید و سپس یک میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور به داخل میوه تزریق شد، مایه‌زنی هم‌چنین با پاشیدن سوسپانسیون اسپور روی میوه و ایجاد زخم با نوک سوزن انجام شد. در روش دوم روی میوه‌های جدا شده، پس از ضدعفونی سطحی، قطعه‌ای از بافت میوه را برداشته و یک دیسک ۵ میلی‌متری از حاشیه کلنی فعال قارچ داخل حفره گذاشته و به جای اول برگردانده شد و درون دسیکاتور نگهداری گردید. بروز علائم روزانه بررسی گردید. شاهد با آب خالی مایه‌زنی شد.

نتیجه و بحث

علائم بیماری

آلودگی میوه عمدتاً از ناحیه گلگاه شروع شده و به قسمت دم‌گاه پیشروی می‌نماید (شکل ۱). نواحی آلوده بصورت نرم، آب سوخته و در مرز پیشرفت بیماری بصورت زرد رنگ دیده می‌شود (شکل ۱). در شرایط مرطوب سطح نواحی آلوده، پوشیده از کپک خاکستری (کنیدی و کنیدیوفور) و گاه‌گاه اسکلرت‌های سیاه‌رنگ به شکل‌های نامنظم و در اندازه‌های متفاوت (میلی‌متر ۱۵ - ۳) روی سطح میوه آلوده و در متن اندام قارچی تشکیل می‌گردند و فرم

علائم پوسیدگی و کپک، جمع‌آوری و داخل کیسه‌های پلاستیکی مجزا قرار داده و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شدند.

جدا و خالص‌سازی

ابتدا نمونه‌های آلوده با آب شستشو، سپس قطعات ۵ - ۲ میلی‌متری از بافت میوه جدا و با الکل ۷۶٪ به مدت ۱ - ۰/۵ دقیقه ضدعفونی سطحی و پس از آب‌گیری به محیط پی‌دی‌ای انتقال داده شدند. جدایه‌های بدست آمده به روش تک اسپور روی محیط آب آگار^۱ ۲٪ خالص‌سازی شدند. جهت شناسایی عامل بیماری، هم‌چنین بصورت مستقیم از کپک‌های موجود روی سطح میوه آلوده، لام میکروسکوپی تهیه و اقدام به شناسایی قارچ گردید.

بررسی اثر دما روی رشد جدایه‌ها

به منظور بررسی اثر دما روی رشد جدایه‌ها، از حاشیه کلنی فعال قارچ که به مدت یک هفته روی پی‌دی‌ای رشد یافته بود، دیسک‌های ۵ میلی‌متری برداشته و به تعداد ۳ عدد داخل پتری جداگانه گذاشته و قطر کلنی بعد از سه روز در دماهای ۵، ۷، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵ و ۴۰ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد.

شناسایی عوامل جدا شده

جهت شناسایی قارچ عامل بیماری، صفات مرفولوژیکی نظیر ابعاد کنیدی، طول کنیدیوفور، رنگ کلنی و تشکیل اسکلرت‌ها روی محیط بررسی و با استفاده از کلیدهای شناسایی معتبر اقدام به شناسایی جدایه‌ها گردید.

اثبات بیماری‌زایی

¹ Water Agar

کلیه جدایه‌های بدست آمده از نمونه‌های دارای علائم خاکستری متعلق به گونه *Botrytis cinerea* تشخیص داده شدند. کلنی قارچ روی محیط در ابتدا بی‌رنگ و سپس به رنگ خاکستری مایل به قهوه‌ای مشاهده شد (شکل ۳-ا). کنیده‌های قارچ بیضوی، شفاف، بی‌رنگ تا قهوه‌ای در ابعاد ۱۷/۵ - ۷ × ۱۰ - ۵ میکرومتر بودند (شکل ۳-ب). کنیدی‌ها هنگام جوانه زدن ظاهراً کمی عریض‌تر شده و تولید جرم تیوب به قطر ۳ - ۲ میکرومتر نمودند. کنیدیوفور بلند، کشیده و به طول ۱/۵ - ۱ میلی‌متر و به قطر ۱۰ - ۵ میکرومتر بصورت شاخه شاخه و غالباً دارای یک پایه صاف بودند که در محل انشعابات کمی باریک شده بودند (شکل ۳-ب). ریشه‌های ضخیم و به قطر ۱۲/۵ - ۱۰ میکرومتر مشاهده شدند. پس از گذشت ۳۰ - ۲۵ روز سختینه‌های (اندام مقاوم) قارچ روی سطح محیط کشت پی دی ای به تعداد فراوان به رنگ قهوه‌ای متمایل به سیاه و به قطر ۸ - ۱ میلی‌متر تشکیل شدند (شکل ۳-ا). در شرایط گلخانه اسکلرت قارچ عامل بیماری به تعداد فراوان و در اندازه‌های متفاوت روی بافت‌های آلوده مشاهده گردید (شکل ۳-د). براساس صفات مورفولوژیکی فوق قارچ عامل بیماری گونه *B. cinerea* تشخیص داده شد. حداقل دمای رشد قارچ ۵ درجه و حداکثر ۳۵ درجه و دمای بهینه رشد ۲۷ - ۲۳ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد. قارچ عامل بیماری تولید اسپورهای غیرجنسی فراوان می‌نماید که در هوا پخش می‌شود و در صورت وجود رطوبت شکوفه‌ها و میوه‌ها توسط کپک پوشیده و کلنی‌زه شده و باعث پوسیدگی میوه می‌گردند. قارچ عامل بیماری قادر است بصورت کنیدی و اسکلرت روی

مقاوم قارچ را تشکیل می‌دهند. در حالیکه در منابع موجود قطر اسکلرت حداکثر میلی‌متر ۳ - ۲ گزارش شده است (۱). علائم بیماری همچنین روی ساقه و دمبرگ خیار نیز مشاهده شد که در شرایط رطوبت بالا باعث پوسیدگی کامل ساقه و جدا شدن آن از محل آلودگی می‌گردد (شکل ۲). علائم مشابهی ناشی از قارچ اسکروتینیا روی میوه و ساقه خیار نیز مشاهده شد ولی توده ریشه^۱ سفید رنگ قارچ آن را از پوسیدگی خاکستری متمایز می‌نماید. در فلفل، گوجه فرنگی، بادمجان (شکل ۵) و توت فرنگی (شکل ۶) علائم بیماری علاوه بر میوه، روی دمبرگ، شاخه و ساقه نیز مشاهده گردید.



شکل ۱. علائم بیماری پوسیدگی خاکستری خیار، شروع بیماری از سمت گلگاه و پیشرفت به سمت دم میوه و علائم زردرنگ در محل پیشروی (چپ)، آلودگی و پوسیدگی کامل میوه نارس (راست)



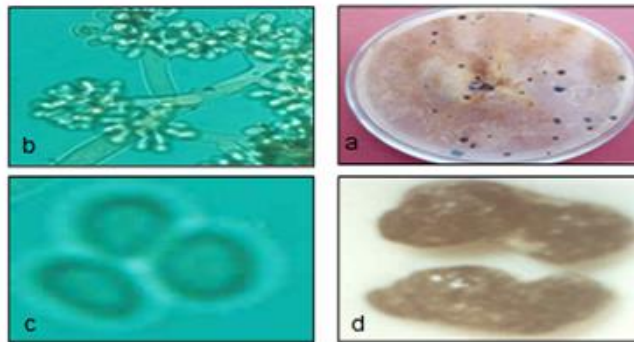
شکل ۲. علائم بیماری پوسیدگی خاکستری روی میوه و ساقه خیار گلخانه‌ای

عامل بیماری و بیولوژی آن

^۱ Mycellium

sclerotium جداسازی و شناسایی گردید (شکل ۴).

بقایای گیاه و در خاک بقاء خود را حفظ نماید. از نمونه های دارای کپک سفید قارچ *Sclerotinia*



شکل ۳. قارچ *Botrytis cinerea* عامل پوسیدگی خاکستری خیار (a): تشکیل سختینه در محیط کشت. (b) کنیدی و کنیدیوفور منشعب با پایه صاف. (c): کنیدی گرد تا بیضوی. (d) سختینه تشکیل شده و جدا شده از میوه خیار در شرایط گلخانه



شکل ۴. علائم بیماری پوسیدگی سفید اسکروتینیایی روی میوه و ساقه خیار گلخانه ای



شکل ۵. علائم بیماری پوسیدگی اسکروتینیایی روی بادمجان و تشکیل اسکروت



شکل ۶. علائم بیماری کپک خاکستری روی گل و میوه توت فرنگی

خاکستری روی اندام آلوده میزبان از کپک سفید (توده پنبه ای سفیدرنگ رشته‌های قارچ) قابل تشخیص است. زمان مناسب شیوع این بیماری در گلخانه‌ها در اواخر فصل پاییز و فصل زمستان که هوا خنک‌تر و رطوبت بیشتر است، می‌باشد. در گلخانه‌های با تهویه نامناسب، شیوع بیماری شدیدتر است.

توصیه ترویجی

کاهش رطوبت، تهویه کافی از طریق دریچه‌های سقفی و جانبی (در صورت امکان نصب فن تهویه)، عدم کاشت متراکم، رعایت بهداشت و بخصوص جمع آوری فوری اندام‌های هرس شده و بافت‌های آلوده در کاهش منبع آلودگی و کنترل بیماری بسیار موثر است. جهت تسهیل تهویه، آرایش ردیف‌های کاشت حتما عمود بر دریچه‌های جانبی باشد. پس از رعایت موارد فوق در صورت مشاهده بیماری می‌توان از سموم قارچ‌کش مجاز و با دوره کارنس پائین استفاده نمود و در صورت نیاز، سم‌پاشی به فاصله ۱۴ روز تکرار شود.

سپاسگزاری

نگارنده بر خود لازم می‌داند از موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور و مرکز تحقیقات آموزش کشاورزی و منابع طبیعی جنوب استان کرمان به لحاظ فراهم نمودن بستر اجرای کاشت و تامین اعتبار تشکر نماید.

بیماری زایی: تمام جدایه‌های بدست آمده روی میوه خیار، فلفل، بادمجان، توت‌فرنگی و گوجه‌فرنگی در هر دو شرایط گلخانه و آزمایشگاه بیماریزا بوده و ۷-۵ روز بعد از مایه‌زنی علائم بیماری ابتدا بصورت نواحی زرد رنگ و سپس پوسیدگی نرم پوشیده از کپک مشاهده شد. قارچ عامل مجدداً بازیابی شد. در شاهد هیچ علائمی مشاهده نشد. تفاوت خاصی بین روش‌های مایه زنی مشاهده نگردید. گونه‌ی *B. cinerea* در مزرعه به صورت ساپروفیت روی میوه، برگ‌ها و سایر بافت‌های مرده گیاهی مستقر و بقای خود را حفظ نماید. این نوع بقا در توت‌فرنگی گزارش شده و بیمارگر روی برگ‌های مرده زمستان‌گذرانی می‌کند، سپس فاز انگلی خود را در مرحله‌ی گل‌دهی آغاز می‌کند و به صورت نهفته روی پرچم و زیر کاسبرگ باقی می‌ماند و نزدیک یا بلافاصله پس از برداشت، میوه را آلوده می‌کند (پوولسون، ۱۹۶۰).^۱ همچنین *B. cinerea* قادر به آلوده کردن میوه‌ها و سبزی‌ها پس از برداشت از طریق بافت‌های آسیب‌دیده‌ی انتهای ساقه‌ی و سپس آلودگی انتهای ساقه به تمام میوه گسترش می‌یابد. این نحوه آلودگی در میوه‌ی کیوی گزارش شده است (میچالیدز و المر، ۲۰۰۰).^۲ در میوه‌ی سیب آلودگی از زخم‌ها، انتهای ساقه یا کاسه‌ی گل انتهای میوه‌ها آغاز می‌شود (ژائو و کیم، ۲۰۰۸).^۳

نتیجه گیری

علائم بیماری پوسیدگی خاکستری ناشی از قارچ بوتریتیس به راحتی با مشاهده کپک

¹ Powelson

² Michalides and Elmer

³ Xiao and Kim

منابع مورد استفاده

- Anna, L. S. 1991.** A colour Atlas of pest harvest disease and disorders of fruits and vegetables. V2: vegetables. pp.416.
- Arai, M. 1993.** Grey mould of sesbania caused by *Botrytis cinerea*. Annuals of the Phytopathological Society of Japan, 59(5): 610 – 613.
- Chai, G. J., Chang, Y. R., and Cho, K. Y. 1990.** Various factors affecting sporulation and growth of *Botrytis cinerea* and the severity of cucumber grey mould rot. Korean Journal of Plant Pathology, 6(2): 186 – 192.
- Elad, Y. and Yunis, H. 1993.** Effect of microclimate and nutrients on development of cucumber grey mould. Phytopathologica, 21(3): 257 – 268.
- Elad Y., Vivier M. and Fillinger S. 2015.** Botrytis: the Good, the Bad and the Ugly. Pp. 1–15. In: Fillinger S., Elad Y. and Vivier M. (eds.). Botrytis—the Fungus, the Pathogen and Its Management in Agricultural Systems. Springer, Heidelberg, Germany.
- Frick, A. and Krug, H. 1997.** Influence of humidification and dehumidification on greenhouse climate as well as water relations and productivity of cucumber. Gartenbauwissenschaft, 62(1): 9-17.
- Michailides T.J. and Elmer P. A. G. 2000.** Botrytis gray mold of kiwifruit caused by *Botrytis cinerea* in the United States and New Zealand. Plant Disease, 84: 208–223.
- Powelson R. L. 1960.** Initiation of strawberry fruit rot caused by *Botrytis cinerea*. Phytopathology, 50: 491–494.
- Yunis, H., Elad, Y., and Mahrer, Y. 1990.** Effects of air temperature, relative humidity and canopy wetness on grey mould of cucumber in unheated greenhouses. Phytoparasitica, 18(3): 203 – 215.
- Xiao C. L. and Kim Y. K. 2008.** Postharvest Fruit Rots in Apples Caused by *Botrytis cinerea*, *Phacidiopycnis washingtonensis*, and *Sphaeropsis pyriputrescens*. Plant Health Progress. doi:10.1094/PHP-2008-0919-01-DG

Grey Mold Rot of Greenhouse cucumber

Abstract

The cultivation of plants under greenhouse conditions is very important in South part of Kerman province. During investigations in numerous fields of cucumber under greenhouse conditions, symptoms of cucumber fruit and stem rot were observed. Infection began from blossom end. The infested fruits and stems covered with grey mold and showed soft rot with yellowing bound in edge of infected tissues. The sclerotia of fungus formed on surface of infested fruits with different shape (round to ellipsoid), dark in color, with 3-15 mm long. To identify the causal agent of the disease, infected tissues (3-5 mm in size) were cut from edge of infected border and after disinfecting with ethanol 76%, cultured on PDA medium. The fungus colony was grey to brown in color on PDA and after 25-30 days the sclerotia (0.5- 4 mm in size) formed on medium surface. Conidia ellipsoid and colorless to brown ($5-10 \times 7-17.5 \mu\text{m}$), conidiophore long (1-1.5 mm), branched and usually with basic cell. Based on above characteristics, the causal agent was identified as *Botrytis cinerea*. Pathogenicity test carried out using spraying one ml suspension, containing 10^6 spores per ml on surface of target tissues (fruit and stem). Distilled water used as control. The results showed all isolates were pathogenic on cucumber. The *B. cinerea* was also isolated from strawberry, green pepper, tomato and eggplant in greenhouse of South Kerman.

Key words: disease, grey mold, greenhouse