نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد 31، شماره 3، پاییز 1396، ص. 474-466

Journal of Plant Protection
Vol. 31, No. 3, Fall 2017, P. 466-474

# غربالگری ارقام خیار مقاوم به سفیدک پودری و بررسی مقایسه‌ای فلورسانس کلروفیل در ارقام حساس و مقاوم

نامدار مرادی[1] - حشمت ا... رحیمیان[2] - علی دهستانی[3*] - ولی ا... بابایی زاد[4] - یاسر یعقوبیان[5]

تاریخ دریافت: 1395/07/10
تاریخ پذیرش: 1396/04/17

## چکیده

خیار یکی از اقتصادی‌ترین صیفی‌جات تولیدی در ایران است که به شدت توسط سفیدک پودری مورد هجوم قرار می‌گیرد. یکی از مؤثرترین راه‌های کنترل اپیدمی این بیماری شناسایی و کاربرد ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری است. در مطالعه حاضر تعداد 23 رقم خیار گلخانه‌ای و مزرعه‌ای از نظر مقاومت به سفیدک پودری غربالگری شده و ارقام مقاوم بر اساس برآورد درصد شاخص بیماری (PDI) شناسایی شدند. در ادامه فلورسانس کلروفیل برگ در 5 رقم از گروه‌های مقاوم، نیمه مقاوم و حساس برآورد و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بر اساس نتایج برآورد شاخص بیماری، اختلاف قابل ملاحظه‌ای از نظر مقاومت به این بیماری در بین ارقام مشاهده شد به طوری که در چهار گروه مقاوم، نیمه مقاوم، نیمه حساس و حساس دسته‌بندی شدند. دو رقم گلخانه‌ای CLE و Green Magic به ترتیب با شاخص بیماری 7/78 و 8/33 مقاوم‌ترین و دو رقم مزرعه‌ای Beit Alpha و SuperN3 به ترتیب با شاخص بیماری 31/11 و 31/67 حساس‌ترین ارقام شناخته شدند. در تجزیه واریانس شاخص‌های فلورسانس کلروفیل، اثر بیماری بر 3 شاخص فلورسانس حداقل (Fo)، فلورسانس متغیر (Fv) و شاخص سرزندگی گیاه (Fv/Fm) و اثر رقم بر شاخص Fo معنی‌دار بود (P<=0.01). همچنین مقایسه میانگین شاخص‌های فوق کاهش معنی‌دار کارایی فتوسنتز در ارقام حساس تحت تأثیر آلودگی را نشان داد در حالی که کارایی فتوسنتز در ارقام مقاوم کاملا پایدار بود. نتایج این پژوهش برای کنترل سفیدک پودری خیار بدون استفاده از روش‌های شیمیایی کاربرد داشته و همچنین درک بهتری از تأثیر بیماری بر فتوسنتز در گیاه خیار ارائه خواهد داد.

**واژه‌های کلیدی:** شاخص سرزندگی، درصد شاخص بیماری، فتوسنتز، فتوسیستم II

## مقدمه

خیار زراعی با نام علمی *Cucumis sativus* گیاهی دو لپه، دیپلوئید با 14 عدد کروموزوم (2N=2X=14) و از خانواده کدوئیان است. این گیاه یکی از مهم‌ترین و اقتصادی‌ترین صیفی‌جات مصرفی در ایران است که سطح زیر کشت آن در کشور 92000 هکتار با تولید سالانه 1,78 میلیون تن گزارش شده است (14). تولید خیار تابع تنش های مختلف زیستی و غیر زیستی و کنترل به موقع آن‌ها می‌باشد. از جمله تنش‌های زیستی که تولید این محصول را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد بیمارگرهای قارچی هستند. به طوری‌که با فراهم شدن شرایط این بیماری‌ها به شدت توسعه پیدا کرده و خسارات شدیدی را به بار خواهند آورد (24).

سفیدک پودری یکی از شایع‌ترین بیماری‌های قارچی گیاهان خانواده کدوئیان از جمله خیار است که به وسیله قارچ‌های *Podosphaera xantii (Sphaerotheca fuliginea)* و *Golovinomyces cichoracearum (Erysiphe cichoracearum)* ایجاد می‌شود. این بیماری تقریباً در تمام مناطق کشت خیار مشاهده می‌شود. از مهم‌ترین دلایل شیوع گسترده این بیماری گسترش کشت‌های گلخانه‌ای و مساعد بودن شرایط گلخانه برای رشد قارچ و همچنین تداوم کشت گیاه در طول سال است که در نتیجه شرایط بهینه‌ای را برای شیوع بیشتر این بیماری فراهم کرده است (17). این بیماری برای اولین بار توسط اسفندیاری در سال 1326 (8) در ایران گزارش شده است. علائم این بیماری با ظهور نقاط سفید بر روی برگ و در شدت بالاتر بر روی ساقه‌ها ظاهر می

1 و 3- دکتری بیوتکنولوژی و استادیار، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
(*- نویسنده مسئول: Email: a.dehestani@gmail.com)
2 و 4- استاد و دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
5- دکتری زراعت، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

DOI: 10.22067/jpp.v31i3.55079

شود که در نهایت پودر سفیدی از هاگ و ریسه قارچ این اندام‌ها را می‌پوشاند. در بیشتر موارد اندام‌های آلوده به شدت آسیب دیده و در نهایت سفید و خشک می‌شوند. این بیماری تأثیر نامطلوبی بر روی محصول نیز به جا می‌گذارد به طوری‌که میوه‌ها قبل از موعد رسیده و بافت میوه نرم می‌شود (1) و از این طریق با کاهش دوره برداشت و همچنین کاهش کیفیت و کمیت محصول خسارات فراوانی به بار می‌آورد (22).

از روش‌های مختلفی برای کنترل بیماری سفیدک پودری استفاده می‌شود. از جمله این روش‌ها می‌توان به روش‌های شیمیایی مانند استفاده از قارچ‌کش‌ها، روش‌های زراعی، روش‌های بیولوژیک و شناسایی و توسعه ارقام مقاوم به بیماری اشاره کرد. با وجود استفاده گسترده از قارچ‌کش‌ها در کنترل بیماری، به دلیل ایجاد مقاومت در بیمارگر و همچنین مشکلات زیست محیطی و بهداشتی فراوانی که ایجاد می‌کنند، توجه تولیدکنندگان به راه‌های دیگر کنترل بیماری از جمله شناسایی و توسعه ارقام و ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری معطوف شده است.

وجود مقاومت به سفیدک پودری در منابع گوناگون گزارش شده است. در اواخر دهه 40 میلادی اولین مورد رقم مقاوم به سفیدک پودری به نام "Puerto Rico 37" در ایالات متحده آمریکا مشاهده شد (21) و از آن به بعد تعداد زیادی از ژنوتیپ‌های گوناگون مقاوم در نقاط مختلف دنیا گزارش شده و از آن‌ها در اصلاح نژاد برای مقاومت استفاده شده است (۳۰،۲۱،۱۷ و 32) متعاقب مطالعات صورت گرفته در زمینه شنایی ژنوتیپ‌های دارای مقاومت به این بیمارگر، برای شناسایی و بهره‌برداری از عوامل ژنتیکی مقاومت مطالعات متعددی در زمینه شناسایی QTLها و جایگاه‌های ژنی مقاومت به این بیماری بر روی ژنوتیپ‌های گوناگون از جمله اکوتیپ‌های بانک ذخایر ژنتیکی[1]، واریته‌ها و ارقام محلی انجام شده است (۲۱،۱۷،۱۳ و 23).

تنش‌های وارده به گیاهان به ویژه تنش‌های زیستی مانند آفات و بیماری‌های گیاهی سبب القای تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک در گیاهان مانند تغییرات کارکرد دستگاه فتوسنتز می‌شوند که شناسایی و رصد این تغییرات می‌تواند اطلاعات مفیدی در اختیار ما قرار دهد. فلورسانس کلروفیل به‌عنوان بازتاب واکنش‌های اولیه فتوسنتز (28) یک شاخص فیزیولوژیک معتبر برای مشخص نمودن تغییرات القایی در دستگاه فتوسنتزی می‌باشد که عملیات ارزیابی آن، بدون تخریب بافت گیاهی و در کمترین زمان صورت می‌گیرد (20). تغییر در مقدار فلورسانس کلروفیل روشی برای شناخت و ارزیابی تحمل تنش برای درجه‌بندی گیاهان نیز می‌باشد (10). به طوری که از این تکنیک برای مقایسه ژنوتیپ‌های مختلف گیاهان زراعی چون ذرت، سویا و یولاف در مقاومت به تنش‌های محیطی استفاده شده است (11).

1- Accessions

در ایران علی‌رغم اهمیت بالای سفیدک پودری کدوییان، مطالعات انجام گرفته بر روی آن بسیار محدود بوده و این مطالعات بیشتر روی اثر ترکیبات سمی و غیر سمی بر روی کنترل بیمارگر انجام گرفته (2 و 15) و مطالعات ژنتیکی برای شناسایی عوامل مقاومت و یا غربالگری ژنوتیپ‌های موجود صورت نگرفته است در نتیجه انجام مطالعات گوناگون چه از نظر بررسی‌های ظاهری و همچنین بررسی‌های فیزیولوژیک مانند شاخص‌های فلورسانس کلروفیل، شاخص‌های بیوشیمیایی و ژنتیکی برای شناسایی ارقام مقاوم و در نهایت شناسایی عوامل ژنتیکی مقاومت در آنها برای استفاده در اصلاح مقاومت به این بیماری مفید خواهد بود.

در مطالعه‌ی حاضر تعداد 23 ژنوتیپ خیار غالباً تجاری و متداول در ایران شامل ارقام گلخانه‌ای و فضای باز به منظور مطالعه مقاومت به سفیدک پودری و غربالگری این ژنوتیپ‌ها و در نهایت شناسایی بهترین ژنوتیپ‌ها از نظر مقاومت به این بیمارگر مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین شاخص‌های فلورسانس کلروفیل در تعدادی از ارقام از سه گروه مقاوم، نیمه مقاوم و حساس مورد ارزیابی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### مواد گیاهی

تعداد 23 رقم خیار شامل 9 رقم گلخانه ای، 11 رقم فضای باز، دو رقم بومی اصفهان و یک رقم خیار چنبر در داخل گلخانه به صورت تک‌بوته در داخل گلدان‌های با قطر 15 سانتی‌متر با سه تکرار برای هر رقم کشت شدند. شرایط نوری 14 ساعت روشنایی 10 ساعت تاریکی، دمای شبانه 20-14 درجه و روزانه 28-20 درجه و رطوبت نسبی 30 تا 50 درصد در نظر گرفته شد. ترکیب خاک مورد استفاده شامل نسبت 1:1:1 خاک باغچه، پرلیت و پیت موس بود. آبیاری هر 3 تا 5 روز و بر حسب میزان نیاز گیاهان با ریختن آب تا حد اشباع در داخل گلدان‌ها ضمن تغذیه گیاهان با استفاده از محلول کود مایع کامل NPK (20:20:20) به نسبت 1سی‌سی در لیتر صورت گرفت.

### تهیه انیکولوم اولیه و مایه‌زنی گیاهان

24 روز پس از کشت، زمانی که گیاهان به مرحله 4 برگی رسیده بودند مایه‌زنی بیمارگر به روش اسپری برگی با استفاده از یک روش تعریف شده (33) با برخی تغییرات انجام شد. مایه تلقیح بیماری که قبلاً از داخل گلخانه‌های آلوده تهیه شده و روی رقم حساس نگهداری شده بود مورد استفاده قرار گرفت. برای استفاده از اسپورهای جوان و فعال و ایجاد آلودگی یکنواخت، با دمیدن روی برگ‌های آلوده اسپورهای موجود حذف شدند. پس از گذشت حدود 36 ساعت چند

تکه برگ دارای اسپور زیاد داخل آب مقطر حاوی توین 20 (1 در هزار) غوطه‌ور گردید و با استفاده از لام هموسایتومتر تعداد اسپورها روی $10^5$ عدد در میلی‌لیتر تنظیم شد و سپس به طور یکنواخت روی برگ‌ها اسپری گردید به طوری که قطرات ریز آب روی برگ‌ها را بپوشاند اما جاری نگردد. پس از حدود 30 دقیقه آب سطح برگ‌ها خشک شد. از این مرحله به بعد به مدت 24 ساعت گیاهان در تاریکی با رطوبت نسبی 70 تا 80 درصد و دمای 15 تا 20 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس شرایط گلخانه به صورت به ترتیب دما و رطوبت نسبی شبانه 15 تا 20 درجه و 60 تا 80 درصد و روزانه 20 تا 26 درجه و 50 تا 70 درصد تنظیم شد.

### ارزیابی آلودگی روی ژنوتیپ‌ها و برآورد درصد شاخص بیماری

پس از گذشت 10 روز از آلودگی و با ظهور کامل پرگنه‌های قارچ، ارزیابی گیاهان به مدت 20 روز هر 7 روز تکرار گردید (3 نوبت). ارزیابی بر اساس یک روش پیشنهادی (29) با اندکی تغییرات انجام شد. به این ترتیب که میزان آلودگی سطح برگ برحسب درصد کل سطح برگ محاسبه شد. برای هر رقم سه گیاه (تکرار) و در هر گیاه 4 برگ اولیه آلوده شده ارزیابی شدند. در نهایت برای درجه‌بندی آلودگی از مقیاس عددی صفر تا پنج استفاده شد (29) که در آن صفر= عاری از آلودگی، یک= 1-10 درصد ، دو= 11-25 درصد، سه= 26-50 درصد، چهار= 51-75 درصد و پنج= 75 درصد < سطح برگ پوشیده از اسپور بیماری بود. درصد شاخص بیماری[1] (PDI) برای هرکدام از ارقام در 3 تکرار بر اساس فرمول زیر برآورد گردید. سپس میانگین کل برآوردها برای هر رقم مبنای درجه‌بندی ارقام از نظر آلودگی در نظر گرفته شد (29).

100 x (بیشترین درجه ارزیابی x تعداد برگ های ارزیابی شده)/ مجموع ارزش‌های عددی برآورد شده =PDI

بر اساس میانگین شاخص بیماری بر آورد شده ارقام در چهار گروه یک: مقاوم 0-10 = PDI، دو: نیمه مقاوم11-20 =PDI، سه: نیمه حساس 20-30 =PDI و چهار: حساس30<=PDI دسته‌بندی شدند (29).

### اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل

با گذشت 20 روز از آلودگی، پارامترهای فلورسانس کلروفیل در پنج ژنوتیپ Beit Alpha، CLE، Green magic، Prince و SuperN3 و در سه تکرار برای آخرین برگ گسترش یافته که عاری از آلودگی بود به عنوان شاهد و چهارمین برگ آلوده از پایین به عنوان برگ آلوده با استفاده از دستگاه فلورومتر (PAM-2500, Walz, Germany) و با روشی استاندارد (9) اندازه‌گیری گردید. برای این منظور، برگ‌ها با اتصال گیره مخصوص به مدت 30 دقیقه در تاریکی قرار گرفته و سپس فلورسانس حداقل (Fo) و فلورسانس حداکثر (Fm) اندازه‌گیری شد. در مرحله بعد برگ‌ها در شرایط روشنایی قرار گرفته و میزان فلورسانس پایدار (Ft)، فلورسانس حداکثر (Fm´) و فلورسانس حداقل (Fo´) در برگ‌های سازگار به روشنایی تعیین شد. در نهایت با استفاده از پارامترهای تعیین شده در برگ‌های سازگار به تاریکی و روشنایی، میزان فلورسانس متغیر (Fv)، حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستمII (Fv/Fm)، کارایی کوانتومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستمII [Y(II)]،کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم شده فتوسیستمII [Y(NPQ)]، کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم نشده فتوسیستم - II [Y(NO)] و خاموشی غیرفتوشیمیایی (NPQ) براساس معادلات 1 تا 6 محاسبه گردید (9و16).

1) $Fv=Fm-Fo$ 2) $Fv/Fm=(Fm-Fo)/Fm$

3) $Y(II)= (Fm´-Ft)/Fm$ 4) $Y(NPQ)= (Ft/Fm´)- (Ft/Fm)$

5) $Y(NO)= Ft/Fm$

6) $NPQ= Fm-Fm´/Fm´$

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای محاسبه درصد شاخص بیماری (PDI) از نرم افزار اکسل استفاده شد. داده‌های حاصل از فلورسانس کلروفیل نیز با استفاده از نرم افزار SAS نسخه‌ی 19/1 تجزیه گردید و میانگین‌ها با آزمون دو دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

## نتایج و بحث

### ارزیابی مقاومت به بیماری و دسته بندی ارقام

بین 1 هفته تا 10 روز پس از مایه‌زنی گیاهان، آثار بیماری به صورت لکه‌های سفید رنگ ابتدا در ارقام حساس و به‌تدریج در ارقام دیگر مشاهده شد. مقاومت ارقام بر اساس شاخص PDI برای هر رقم در 3 تکرار محاسبه شد. همچنان که در جدول 1 مشاهده می‌شود ارقام در چهار گروه مقاوم شامل 2 رقم، نیمه مقاوم شامل 6 رقم، نیمه حساس شامل 11 رقم و حساس شامل 4 رقم دسته بندی شدند. با در نظر گرفتن اختلاف ارقام و برای تجزیه و تحلیل بهتر، ارقام مورد مطالعه به دو دسته گلخانه‌ای شامل 9 رقم و فضای باز (مزرعه‌ای) و سایر ارقام شامل 14 رقم تقسیم‌بندی شدند. نتایج مقایسه بین ارقام نشان داد که دسته ارقام گلخانه‌ای هم از نظر میانگین شاخص بیماری (PDI) و در نتیجه گروه‌بندی مقاومت به بیماری بالاتر از سایر ارقام قرار گرفتند. میانگین کل شاخص بیماری در ارقام

1- Percent Disease Index= sum of numerical values / (number of leaves rated · Maximum rating) · 100

گلخانه‌ای 16/85 بود که در محدوده دسته دوم یعنی ارقام نیمه مقاوم قرار می‌گیرند. به طوری‌که دو رقم مقاوم شناسایی شده یعنی CLE و Green Magic در این دسته جای گرفتند و غیر از رقم Artoosh از این دسته که جزو ارقام حساس قرار گرفت بقیه در گروه‌های 2 و 3 یعنی نیمه حساس (3 رقم) و نیمه مقاوم (3رقم) قرار گرفتند.

در دسته ارقام فضای باز و سایر ارقام، هم از نظر میانگین و هم از نظر تعداد ارقام گروه‌های مختلف، مقاومت به سفیدک پودری به طور قابل ملاحظه‌ای پایین‌تر از ارقام گلخانه‌ای بود. در این دسته میانگین شاخص بیماری 23/69 است که در محدوده گروه سوم یعنی ارقام نیمه حساس قرار می‌گیرد. همچنین 2 رقم از حساس‌ترین ارقام شامل Beit Alpha و Super N3 و 3 رقم نیمه مقاوم شامل ارقام Sirana F1، Prince و رقم بومی اصفهان 2 در این دسته قرار گرفتند و هیچ کدام از ارقام این دسته در گروه ارقام مقاوم قرار نگرفتند. همچنین رقم خیار چنبر ارزیابی شده با شاخص بیماری 30/3 در محدوده ارقام حساس قرار گرفت (جدول 1).

**جدول 1- درصد شاخص بیماری برآورد شده برای ارقام خیار مورد مطالعه**

**Table 1- Estimated percent disease index (PDI) for studying cucumber cultivars**

| ارقام گلخانه‌ای Greenhouse cultivars | | | ارقام فضای باز Outdoor cultivars | | |
|---|---|---|---|---|---|
| رتبه مقاومت Resistance rank | PDI | رقم Cultivar | رتبه مقاومت Resistance rank | PDI | رقم Cultivar |
| 1 | 7.78 | سی ال ای CLE | 2 | 15.56 | سیرانا Sirana F1 |
| 1 | 8.33 | گرین مجیک Green magic | 2 | 18.89 | پرنس Prince |
| 2 | 10.56 | سینا Sina RS 189 | 3 | 20 | وکتور Victor MVR |
| 2 | 12.78 | اورگرین Evergreen | 3 | 21.11 | داووس2 Davos II |
| 2 | 13.89 | اسپادانا Espadana R2 | 3 | 29.44 | رامز Ramezz |
| 3 | 21.11 | سلطان Sultan | 3 | 22.78 | سوپر دومینوس Super Dominus |
| 3 | 21.67 | پی اس 64 Ps64 | 3 | 23.33 | امپراتور Emparator |
| 3 | 25 | جی اس آی GSI | 3 | 24.44 | کالیپسو Calypso F1 |
| 4 | 30.56 | آرتووشArtoosh | 3 | 27.78 | داووس Davos |
| | | | 4 | 31.11 | بیت آلفا Beit Alpha |
| | | | 4 | 31.67 | سوپر ان3 SuperN3 |
| | | | 3 | 21.11 | اصفهان 1 Isfahan 1 |
| | | | 2 | 17.78 | اصفهان2 Isfahan 2 |
| | | | 4 | 30.3 | خیار چنبر Snake Melon |
| | 16.85 | | | 23.69 | میانگین mean |
| | 8.03 | | | 5.17 | انحراف معیار S.D |
| | 21.74 | | | | میانگین کل total mean |
| | 6.77 | | | | انحراف معیار کل total S.D |

حساس: d نیمه حساس3: نیمه مقاوم: 2 مقاوم: 1

4: sensitive 3: semi-sensitive 2: semi-resistant 1: resistant

در مطالعات گوناگون منابع مختلفی از ژنوتیپ‌های مقاوم به سفیدک پودری در کدوییان گزارش و استفاده از آنها برای کنترل این بیماری در کنار استفاده از روش‌های دیگر به ویژه روش‌های دوست دار محیط زیست مانند روش‌های بیولوژیک و مدیریت عوامل محیطی به عنوان مؤثرترین روش مبارزه معرفی شده اند (۱۷،۱۲ و 26). در مطالعه حاضر هدف ارزیابی ارقام در شرایط گلخانه بود و بر این اساس شرایط برای رشد بهینه بیمارگر فراهم شد و همچنین با در نظر گرفتن تفاوت بالای موجود در زمینه ژنتیکی ارقام، عوامل محیطی دما و رطوبت در دامنه نسبتا مناسب برای رشد بیماری (دمای 28-14 درجه سانتی‌گراد و رطوبت 80-50 درصد) تنظیم شدند. در نتیجه به

نظر می‌رسد که دو رقم گلخانه‌ای CLE و Green Magic از گروه ارقام مقاوم با دارا بودن حداکثر مقاومت برای استفاده در کشت‌های گلخانه‌ای مناسبترین ارقام در بین ارقام ارزیابی شده از نظر کنترل بیماری سفیدک پودری کدوییان ناشی از گونه *Sphaerotheca fuliginea* باشند. اما یادآوری این نکته ضروری است که عوامل ایجادکننده سفیدک پودری کدوییان شامل دوگونه اصلی (*Sphaerotheca fuliginea* و *Erysiphe cichoracearum*) و نژادهای مختلف این گونه‌ها می‌باشد. در نتیجه توصیه می‌شود برای مشخص کردن دامنه مقاومت یک ژنوتیپ گیاهی به همه عوامل ایجاد کننده این بیماری، در مقابل نژادهای مهم و رایج بیماری از هردو گونه فوق مورد آزمون قرار گیرد (12). از سوی دیگر پاسخ ژنوتیپ‌های مختلف به بیماری در شرایط محیطی متفاوت مانند شرایط مزرعه یا گلخانه و همچنین تغییرات دما و رطوبت (21) و حتی در مراحل رشدی مختلف مانند مرحله گیاهچه‌ای و گیاه بالغ ممکن است متفاوت باشد و باید این موارد درمطالعات کامل‌تر برای انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم در نظر گرفته شود. در مطالعه حاضر هدف ارزیابی پاسخ ژنوتیپ‌ها در شرایط گلخانه بود اما ارزیابی ارقام در شرایط بهینه رشد و توسعه بیماری سفیدک پودری انجام شد.

برای ارزیابی بیشتر تأثیر بیماری بر ارقام مختلف در ادامه رشد، گیاهان تا محصول‌دهی کامل نگهداری شدند. در ارزیابی این مرحله تنها رشد دو رقم حساس Super N3 و Beit Alpha کاملاً متوقف شد و بیشتر از مرحله 10-8 برگی نتوانستند به رشد خود ادامه دهند و برگ‌ها و حتی ساقه‌های آن‌ها علاوه بر آلودگی شدید به سفیدک پودری به شدت زرد شده و به مرور زمان ابتدا کلروزه و در نهایت نکروزه شده و از بین رفتند. اما ارقام مقاوم CLE و Green Magic علی‌رغم آسیب‌های جزئی وارده به برگ‌های تیمار شده رشد خود را به صورت طبیعی ادامه داده و در سطح قسمت‌های بالایی شامل برگ‌ها، ساقه‌ها و میوه‌ها آسیب قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد. همچنین در بیشتر ارقام گلخانه‌ای دیگر با وجود نکروزه شدن و از بین رفتن برگ‌های اولیه (به ویژه در ارقام نیمه حساس) رشد خود را کامل کرده و تولید محصول کردند.

در نتیجه انتظار بر این است که با کشت ارقام مقاوم CLE و Green Magic و در درجات بعدی ارقام نیمه مقاوم معرفی شده در این مطالعه در شرایط عادی گلخانه و یا با در نظر گرفتن حداقل تدابیر در قالب مبارزه تلفیقی با بیماری در شرایط گلخانه و یا مزرعه، بیماری در حد آستانه اقتصادی حفظ شده و نیازی به روش‌های نامطلوب از قبیل مبارزه شیمیایی به ویژه در ارقام مقاوم شناسایی شده نباشد.

## ارزیابی فلورسانس کلروفیل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر بیماری سفیدک پودری بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل در برگ‌های آلوده در مقایسه با برگ‌های سالم ارقام مختلف خیار (جدول 2) نشان داد که اثر بیماری بر سه شاخص فلورسانس حداقل (Fo)، فلورسانس متغیر (Fv) و حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) و همچنین اثر رقم بر شاخص فلورسانس حداقل (Fo) در سطح احتمال0/01 معنی‌دار بود اما اثر متقابل رقم و بیماری بر هیچ‌کدام از پارامترهای مورد بررسی معنی‌دار نبود. به علاوه شاخص‌های دیگر شامل کارایی کوانتومی فتوشیمیایی مؤثر فتوسیستمII [Y(II)]،کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم شده فتوسیستمII [Y(NPQ)]، کارایی کوانتومی غیرفتوشیمیایی تنظیم نشده فتوسیستم II [Y(NO)] و همچنین خاموشی غیرفتوشیمیایی (NPQ) تحت تأثیر هیچ کدام از اثرات بیماری، رقم و اثر متقابل آنها قرار نگرفتند.

**جدول 2- نتایج تجزیه واریانس اثر بیماری سفیدک پودری بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل در ژنوتیپ‌های خیار مورد مطالعه**

**Table 2- The ANOVA results of powdery mildew disease effects on chlorophyll florescence parameters in the studying cucumber cultivars**

| منابع تغییر Source of variation | df | میانگین مربعات Mean of squars | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Fo | Fv | Fv/Fm | Y(II) | Y(NPQ) | Y(NO) | NPQ |
| بیماری Disease | 1 | 0.101** | 0.066** | 0.002** | 0.0001 ns | 0.0005 ns | 0.0002ns | 0.0945 ns |
| رقم Cultivar | 4 | 0.151** | 0.02 ns | 0.0004 ns | 0.0008 ns | 0.0005 ns | 0.0003 ns | 0.0547 ns |
| رقم در بیماری Cultivar×disease | 4 | 0.027 ns | 0.019 ns | 0.00013 ns | 0.0005 ns | 0.0004 ns | 0.0003 ns | 0.0511 ns |
| خطای آزمایشی Error | 20 | 0.006 | 0.007 | 0.00016 | 0.0008 | 0.0003 | 0.0002 | 0.0222 |
| درصد CV | - | 6.8 | 2.13 | 2.27 | 4 | 12.9 | 10.5 | 14.4 |

**معنی دار در P<=0.01

**significant at P<=0.01

مقایسه میانگین‌ها برای شاخص‌های فلورسانس کلروفیل که تحت تأثیر بیماری و رقم قرار گرفته‌اند (جدول 3) نشان داد که شاخص Fo در برگ‌های آلوده در مقایسه با برگ سالم در همه ارقام افزایش پیدا کرد اما بیشترین افزایش Fo در ارقام Beit Alpha و SuperN3 مشاهده شد که به ترتیب درصد 11/3 (1/8 در مقابل 1/61) و درصد 11/4 (1/76 در مقابل 1/58) بوده و از نظر آماری نیز معنی‌دار بود (جدول 3 و شکل 1). همچنین میزان Fo در برگ‌های سالم رقم CLE به طور معنی‌داری ($P<0.05$) بیشتر از برگ‌های سالم سایر ارقام بود که نشان دهنده اختلاف معنی‌دار ارقام از نظر فلورسانس کلروفیل است (جدول 2 و 3).

مطالعات صورت گرفته بر فتوسنتز نشان داده است که هنگامی‌که نور در سطح متوسط باشد، بخش غالب آن در فعالیت‌های فتوشیمیایی به مصرف فتوسنتز می‌رسد و بخش کمی از انرژی نورانی به‌صورت فلورسانس ساطع می‌گردد که به عنوان فلورسانس حداقل (Fo) شناخته می‌شود (27). در مطالعه حاضر میزان Fo در تمام ارقام مورد بررسی، در برگ‌های آلوده به بیماری سفیدک پودری نسبت به برگ‌های سالم افزایش نشان داد اما این افزایش فقط در ارقام حساس معنی‌دار بود (جدول 3 و شکل 1). افزایش شاخص Fo نشان دهنده آسیب به فتوسیستم II مانند تخریب مراکز واکنش و یا کاهش منبع پلاستوکوئینون می‌باشد (5).

**جدول 3- مقایسه میانگین شاخص‌های فلورسانس کلروفیل در برگ‌های آلوده به سفیدک پودری در مقایسه با برگ‌های سالم در ارقام خیار مورد مطالعه**

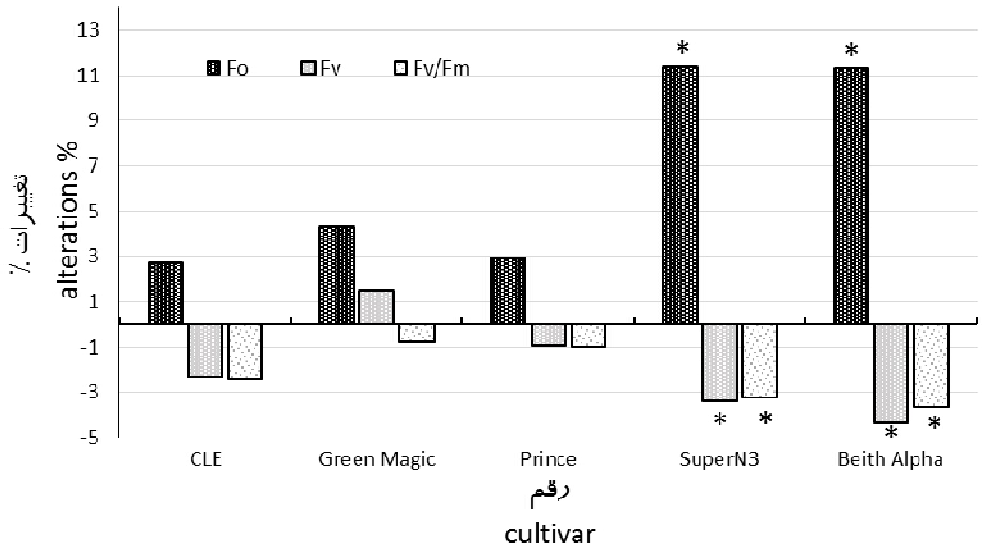
**Table 3- Comparing of the means of chlorophyll florescence parameters in powdery mildew infected compared to healthy leaves in studying cultivars**

| شاخص Parameter | تیمار Treatment | CLE | Green Magic | Prince | Super N3 | Beit Alpha |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Fo | برگ سالم Healthy leaf | 1.83cd* | 1.62ab | 1.69abc | 1.58a | 1.61a |
| | برگ آلوده infected leaf | 1.88d | 1.69abc | 1.74cd | 1.76bcd | 1.80cd |
| Fv | برگ سالم Healthy leaf | 5.07ab | 5.14abc | 5.22bc | 5.3d | 5.33d |
| | برگ آلوده infected leaf | 5.02a | 5.22cd | 5.17abc | 5.15bc | 5.10abc |
| Fv/Fm | برگ سالم Healthy leaf | 0.746abc | 0.761abc | 0.756bcd | 0.771d | 0.767cd |
| | برگ آلوده infected leaf | 0.728a | 0.755bcd | 0.784abcd | 0.746abc | 0.739ab |

* براساس آزمون دانکن میانگین‌های دارای حرف یا حروف مشترک در هر ستون در سطح احتمال پنج درصد، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند

*Based on Duncan test the means sharing lowercase (s) in each column have no significant difference at P<=.05

شاخص‌های Fv و Fv/Fm در دو رقم حساس به طور معنی‌داری کاهش پیدا کردند به طوری که Fv و Fv/Fm در رقم Beit Alpha به ترتیب 4/3 و 3/6 درصد و در رقم SuperN3 به ترتیب 3/4 و 3/2 درصد کاهش پیدا کردند (جدول 3 و شکل 1). فلورسانس متغیر (Fv) حاصل از اختلاف Fm با Fo بوده وضعیت جریان الکترون از بخش فتوسیستم به $Q_A$ را نشان می‌دهد (3). Fv/Fm نیز بیانگر حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستمII برای تبدیل نور جذبی به انرژی شیمیایی می‌باشد. Fv/Fm به عنوان شاخص سرزندگی شناخته می‌شود و به‌طورگسترده‌ای به‌عنوان شاخصی معتبر برای نشان دادن اختلال ناشی از تنش در مراکز فتوشیمیایی و بازدارندگی نوری استفاده شده است (3 و 19). کاهش این پارامتر نشان از کاهش حداکثر کارایی کوانتومی فتوسیستمII می‌باشد (3). رضایی و همکاران (25) در بررسی اثر بیماری ریزومانیا، اختلاف کارایی کوانتومی بین ژنوتیپ‌های چغندر قند را گزارش نمودند. همچنین در پژوهشی که کلاور و همکاران (7) در ارقام چغندرقند انجام دادند، بیان داشتند که در بوته‌های آلوده به بیماری ویروس زردی چغندر قند، عملکرد کوانتومی آنها نسبت به بوته‌های سالم بطور معنی‌داری کاهش یافت. عملکرد کوانتومی ارتباط مستقیمی با فتوسنتز خالص گیاه دارد و کاهش آن در نهایت سبب کاهش تولید ماده خشک، کاهش رشد و در نهایت کاهش عملکرد اقتصادی گیاه می‌شود (25). همچنین اثر منفی آلودگی بیماری‌های قارچی بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل در پژوهش‌های دیگری نیز گزارش شده است (4 و 6).




**شکل 1- درصد تغییرات شاخص‌های فلورسانس کلروفیل اندازه گیری شده در برگ‌های آلوده به بیماری سفیدک پودری در مقایسه با برگ‌های سالم در 5 رقم خیار. اندازه گیری براساس داده های مربوط به مقایسه میانگین در جدول 3 انجام شده است. * تغییرات در مقایسه با شاهد معنی دار است (P<=0.05)**

**Figure 1- Percent changes of chlorophyll florescence parameters measured in powdery mildew infected compared to healthy leaves of 5 cucumber cultivars. The measurements was done based on the comparing of the means data shown in table 3. *The changes are significant compared to control**

در مجموع با توجه به نتایج پارامترهای فلورسانس کلروفیل، از بین پنج ژنوتیپ مورد بررسی، ژنوتیپ‌های Beit Alpha و SuperN3 به ترتیب حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها نسبت به بیماری سفیدک پودری شناخته شدند. ولی در سه ژنوتیپ دیگر شامل Prince (نیمه مقاوم) و Green Magic و CLE (مقاوم) آلودگی به عامل بیماری سفیدک پودری اثر معنی‌داری بر پارامترهای فلورسانس کلروفیل نداشته و فتوسیستم II و درنتیجه سیستم فتوسنتزی این ارقام آسیب چندانی نشان نداد. این نتایج با داده‌های حاصل از بررسی مقاومت بر اساس شاخص بیماری هماهنگ است. زیرا دو رقم Beit Alpha و SuperN3 با شاخص PDI به ترتیب 31/11 و 31/67 جزو حساس‌ترین، رقم Prince با شاخص PDI برابر با 18/89 نیمه مقاوم و CLE و Green Magic به ترتیب با شاخص بیماری 7/78 و 8/33 مقاوم‌ترین ارقام بودند (جدول 1). در اینجا می‌توان دو پیشنهاد را در ارتباط با استفاده از فلورسانس کلروفیل در تنش سفیدک پودری در قالب آزمایش‌های گسترده و کامل‌تر مطرح کرد. پیشنهاد اول در ارتباط با پیش‌بینی وقوع بیماری در مراحل اولیه توسعه آن به ویژه در ارقام حساس است. از آنجایی که در اینجا برگ‌های آلوده در مقایسه با برگ‌های سالم بررسی شدند، این احتمال دور از انتظار نیست که به دلیل تأثیر آلودگی بر کل گیاه اختلاف بین برگ‌های آلوده (عمدتاً ناشی از آسیب‌های وارده در اثر جراحات ناشی از توسعه بیمارگر) و سالم به قدری پایین باشد که در مراحل اولیه توسعه بیماری قابل مشاهده نباشد. اما زمانی که این مقایسه با گیاه شاهد غیر آلوده انجام گیرد با توجه به حساسیت روش ممکن است که بتوان بیماری را قبل از توسعه آن و ظهور آثار بیماری با استفاده از اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل و تجزیه و تحلیل آن پیش‌بینی کرد. پیشنهاد دوم نیز در ارتباط با مقایسه ژنوتیپ‌های مختلف و دسته‌بندی آنها با مقاییسه آنها با گیاه شاهد سالم از نظر فلورسانس کلروفیل برگ می‌باشد. در اینجا نیز لازم است گه ارزیابی در طول زمان توسعه بیماری با رصد کردن زمان بروز تغییرات و همچنین شدت تغییرات در زمان‌های مختلف انجام گیرد.

در انتها با توجه به نتایج برآورد شاخص بیماری و همچنین شاخص‌های فلورسانس کلروفیل پیشنهاد می‌شود برای کشت‌های گلخانه‌ای به ویژه در شرایط جغرافیایی و همچنین محیطی مناسب برای بروز بیماری، دو رقم مقاوم CLE و Green Magic در درجه اول و ارقام نیمه مقاوم دیگر در درجات بعدی مورد استفاده قرار گیرند. برای کشت‌های مزرعه‌ای به ویژه در مناطق مساعد برای بروز بیماری پیشنهاد می‌شود ارقام با مقاومت بالاتر از جمله Sirana F1 و Prince در اولویت قرار گیرند. در نهایت با در نظر گرفتن نتایج مطالعه حاضر، حتی اگر دلایل خاصی مانند عملکرد، مزه، بازارپسندی و یا مقاومت به تنش‌های دیگر برای کشت ارقام حساس Beit Alpha و

SuperN3 وجود داشته باشد به دلیل اهمیت بالای سفیدک پودری، استفاده از آن‌ها تنها برای کشت‌های مزرعه‌ای در مناطق خشک و با در نظرگرفتن تدابیر لازم برای کنترل بیماری در قالب یک برنامه تلفیقی قابل توصیه می‌باشد.

## منابع


1- Ashkan M. 2005. Preliminary Phycology. Aeej publication. Tehran, (Book in Persian).
2- Azimi H. 2012. Effect of kresoxim methyl and tetraconazole fungicides in combination with potassium bicarbonate for controlling powdery mildew disease of cucurbits under greenhouse conditions. Iranian Journal of Practical Researches in Plant Protection, 1(1):58-65 (in Persian with English abstract).
3- Baker N.R., and Rosenqvist E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. Journal of Expeprimental Botany, 55(403):1607-1621.
4- Bauriegel E., and Herppich W.B. 2014. Hyperspectral and chlorophyll fluorescence imaging for early detection of plant diseases, with special reference to fusarium spec. infections on wheat. Agriculture, 4:32-57.
5- Bolhar-Nordenkampf H.R., Long S.P., Baker N.R, Oquist G., Schreiber U., and Lechner E.G. 1989. Chlorophyll fluorescence as a probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrumentation. Functional Ecology, 3:497–514.
6- Bowden R.L., Rouse D.I., and Sharkey T.D. 1990. Mechanism of photosynthesis decrease by *Verticilium dahliae* in potato. Plant Physiology, 94:1048-1055.
7- Clover G.R.G., Azam-Ali S.N., Jaggard K.W., and Smith H.G. 1999. The effects of beet yellows virus on the growth and physiology of sugar beet (*Beta vulgaris*). Plant Pathology, 48:129-138.
8- Esfandyari A. 1947. Third list of collected fungi in Iran. Iranian Journal of Plant Pathogens and Pests. 1-15 (in Persian with English abstract).
9- Genty B., Briantais J.M., and Baker N.R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and photochemical quenching of chlorophyll fluorescence. Biochimica et Biophysica Acta, 990:87–92.
10- Hakam P., khanizade S., Deell J.R., and Richr C. 2000. Assessing chilling tolerance in roses using chlorophyll fluorescence. Horticultural Sciences, 35:184-186.
11- Hasani Z., Pirdashti H., Yaghoubian Y., and Noori M.Z. 2014. Application of Chlorophyll Fluorescence Technique to Evaluate the Tolerance of Rice (*Oryza sativa* L.) Genotypes to Cold Temperature and Water Stresses. Iranian Journal of Cell and Tissue (JCT), 5(2):195-206 (in Persian with English abstract).
12- Hector G., Palenius N., Hopkins D., and Daniel J.C. 2006. Powdery mildew of cucurbits in Florida. University of Florida. http://www.edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/HS/HS32100.pdf.
13- Hi X., Li Y., Pandey S., Yandell B.S., Pathak M., and Weng Y. 2013. QTL mapping of powdery mildew resistance in WI 2757 cucumber (*Cucumis sativus* L.). Theoretical and Applied Genetics, 126(8):2149-2161.
14- Jahade Keshavarzi organization. 2014. Crop products statistics. Communication and information technology center. 2012-2013 annual report.106-107. http://amar.maj.ir (in Persian).
15- Jamalizavareh A.H., Sharifi Tehrani A., Hejarood G.H.A., Zad S.J., Mohammadi M., and Talebi Jahromi K.H. 2004. An investigation of the effectiveness of acibenzolar– S –methyl for the control of cucumber powdery mildew. Iranian Journal of Agriculture Sciences, 35(2):285-292 (in Persian with English abstract).
16- Klughammer C., and Schreiber U. 2008. Complementary PSII quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the saturation pulse method. PAM Application Notes, 1:27-35.
17- Kooistra E. 1968. Powdery mildew resistance in cucumber. Euphytica, 17:236-244.
18- Lebeda A. 1984. Screening of wild cucumis species for resistance to cucumber powdery mildew (*Erysiphe cichoracearum* and *Sphaerotheca fuliginea*. Scientia Horticulturae. 24:241-249
19- Li G.M., Liu B.B., Wu Y., and Zou Z.R. 2008. Interactive effects of drought stresses and elevated $CO_2$ concentration on photochemistry efficiency of cucumber seedlings. Journal of Integrative Plant Biology, 50(10):1307-1317.
20- Mehata P., Jajoo A., Mathur S., and Bharti S. 2010. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on photosystem II in wheat leaves. Plant Physiology and Biochemistry, 48:16-20.
21- Morishita M., Sugiyama K., Saito T., and Sakata Y. 2003. Powdery mildew resistance in cucumber. Japan Agricultural Research Quarterly, 37(1):7-14.
22- Mossler M.A., and Nesheim O.N. 2005. Florida crop/pest management profile: Squash. Electronic Data Information Source of UF/IFAS Extension (EDIS).CIR 1265. http://www.edis.ifas.ufl.edu/.
23- Qi X, Xu Q., Shen L., Alfandi M., Luo J., and Chen X. 2010. Identification of differentially expressed genes between powdery mildew resistant near-isogenic line and susceptible line of cucumber by suppression subtractive hybridization. Scientia Horticulturae, 126:27–32.

24- Ranjbar A., Shahriari D., and Rafezi R. 2008. An evaluation on the resistance of the germplasm of cucumber against Downy Mildew of cucurbitaceae (*Pseudoperonospora cubensis*). Iranian Journal of plant protection, 22(2):71-83 (in Persian with English abstract).
25- Rezaei J., Banayan Awal M., Mehrvar M., and Mahmoodi B. 2014. Beet physiological Behaviors in response to viral Rhizomania disease. Journal of Plant Protection, 28(1):138-146 (in Persian with English abstract).
26- Roberts P., and Pernezny K.L. 2005. Varieties of vegetables with resistance to disease. Electronic data information source of UF/IFAS extension (EDIS). PPP-63. February, 3, 2005. http://edis.ifas.ufl.edu/.
27- Rohacek K., Soukupova J., and Bartak M. 2008. Chlorophyll fluorescence: A wonderful tool to study plant physiology and plant stress. In Schoefs B, (ed). Plant Cell Compartments - Selected Topics. Research Signpost, Kerala, India, 41-104.
28- Sayed O.H. 2003. Chlorophyll fluorescence as a tool in cereal crop research. Photosyntetica, 41(3):321-330.
29- Shashikumar K.T., Pitchaimuthu M., Kumar D.P., and Rawal R.D. 2011. Heterosis and combining ability for resistance to powdery mildew in adult melon Plants. Plant Breeding, 130:383-387.
30- Wilson J.D., John C.A., Wohler H.E., and Hoover M.M. 1956. Two forreign cucumbers resistant to bacterial wilt and powdery mildew. Plant Disease Report, 40:437-438
31- Xia A., Li Y., and Zou D. 2004. Effects of salinity stress on PSII in *Ulva lactuca* as probed by chlorophyll fluorescence measurements. Aquatic Botany, 8:129-137.
32- Zijlstra S., and Groot P.C.G. 1992. Search for novel genes for resistance to powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginae*) in cucumber (*Cucumis sativus*). Euphytica, 64:31-37.
33- Beaver L.W., and Cienfuegos R. 1990. Powdery mildew inoculation techniques for a *Cucurbita moschata* breeding program. HortScience, 25(9):1075-1083.