

## کارآیی فرمولاسیون تجاری گونه‌ی *Pythium oligandrum* (پلی‌ورسوم®) در کنترل بیماری گیاهچه‌میری خیار با عامل، *Pythium ultimum*

حسین عظیمی\* و شهرام نعیمی<sup>۲</sup>

۱. بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهی، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج جهاد کشاورزی، تهران، ایران. ۲. بخش تحقیقات بیولوژیک، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج جهاد کشاورزی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۵/۲۳

تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۰/۲۱

### چکیده:

قارچ‌کش‌ها و هم‌زیست‌های بیولوژیک از ابزارهای مؤثر در مدیریت تلفیقی بیماری‌های بوته‌میری و مرگ گیاهچه خیار، از جمله مهم‌ترین بیماری‌های خیار هستند. در این تحقیق کارآیی فرمولاسیون صنعتی پودر با قابلیت ترشوندگی *Pythium oligandrum* (پلی‌ورسوم®) در کنترل بیماری گیاهچه‌میری خیار با عامل *Pythium ultimum*، در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار و ۴ تکرار در شرایط گلخانه، در تهران و کرج بررسی شد. تیمارهای آزمایش شامل: غلظت‌های ۰/۲، ۰/۲۵، ۰/۳، ۰/۳۵ و ۰/۴ در هزار از پلی‌ورسوم (WP، 17.5%) به‌عنوان عامل بیولوژیک هدف، ۴۰ گرم جداپه تجاری قارچ *Trichoderma harzianum* T-22 (PW) (تریانوم-پی®) برای هر ۱۰۰۰ گیاه، به‌عنوان عامل بیولوژیک مرجع، غلظت ۳ در هزار پروپاموکارپ هیدروکلراید + فوزتیل آلومینیم (SL 84%) (پرویکور انرژي®) و غلظت ۲ در هزار ریدومیل + مانکوزب (WP 72%) (رزالاکسیل®) به‌عنوان قارچ‌کش‌های مرجع بودند. استفاده از مواد بیولوژیک در کرج بلافاصله بعد از کاشت و در تهران ۴۸ ساعت قبل از کاشت انجام و در هر دو آزمایش در مرحله بعد از دو برگی تکرار شد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که پلی‌ورسوم با غلظت‌های ۰/۲، ۰/۲۵، ۰/۳، ۰/۳۵ و ۰/۴ در هزار به ترتیب ۲۵/۵، ۲۸/۴، ۳۰/۶، ۴۲/۹ و ۴۵/۸ درصد در کرج و ۴۹، ۵۴/۶، ۶۲/۵، ۶۱/۷ و ۶۴/۹ درصد در تهران وقوع بیماری را نسبت به شاهد آلوده کاهش دادند. در این آزمایش‌ها تریانوم-پی® به ترتیب ۳۲ و ۶۲/۵ درصد وقوع بیماری را در کرج و تهران نسبت به شاهد آلوده کاهش داد. پرویکور انرژي® و رزالاکسیل® در کرج به ترتیب ۹۰/۲ و ۹۶/۸ و در تهران ۷۹/۹ و ۸۸/۶ درصد وقوع بیماری را نسبت به شاهد آلوده کاهش دادند. این نتایج نشان داد که ایجاد فرصت استقرار برای عوامل بیولوژیک در خاک قبل از کاشت در کارآیی آنها نقش مهمی دارد.

**واژه‌های کلیدی:** پروپاموکارپ هیدروکلراید، کنترل بیولوژیک، فوزتیل آلومینیم، تریانوم، مانکوزب، متالاکسیل.

## مقدمه:

بیماری‌های بوته‌میری و مرگ گیاهچه خیار از مهم‌ترین بیماری‌های محصولات جالیزی هستند و بیشترین خسارت را در بین بیماری‌های گیاهی به این محصولات وارد می‌کند (Khan et al., 2004). گونه‌های مختلفی از جنس *Phytophthora* شامل *Phytophthora de Bary* و *Phytophthora capsici* Leonian و *Phytophthora melonis* Katsura و نیز گونه‌های مختلفی از جنس *Pythium* Nees به‌عنوان عامل بیماری پوسیدگی طوقه جالیز معرفی شده‌اند (Erwin and Ribeiro, 1996; Babadoost and Islam, 2003). وقوع بیماری بوته‌میری از روی خیار در اکثر مناطق کشت خیار در ایالات متحده آمریکا و خسارت صد در صدی آن در بعضی مناطق گزارش شده است (Holmes et al., 2001). استفاده به‌موقع از قارچ‌کش‌ها و نیز عوامل بیولوژیک همواره به‌عنوان یکی از روش‌های مؤثر در مدیریت تلفیقی این بیماری‌ها مورد توجه بوده است (McGrath, 2001). اثر قارچ‌کش‌های فوزتیل آلومینیم، ترکیبات مسی، دی‌متومورف، متالاکسیل و کلروتالونیل و نیز ترکیبات جدید در کنترل بیماری مطالعه و اثر کنترل‌کنندگی کافی آنها روی بیماری تایید شده است (McGarth, 2001). در ایران مطالعاتی در رابطه با بیماری پوسیدگی طوقه جالیز (Ershad and Shirzadi, 1969; Etebarian, 1978; Alavi, 1973; 1969)، اثبات بیماری‌زایی (Alavi and Strange, 1979)، دامنه‌ی میزبانی (Alavi and Saber, 1986) و روش‌های مبارزه شیمیایی و غیرشیمیایی (Sharifi-Tehrani and nazari, 1995) انجام و نیز مطالعاتی در خصوص امکان بهره‌گیری از قابلیت دفاعی نهفته در میزبان (فیتوآلکسین‌ها) صورت گرفته است (Strange et al., 2017).

گونه‌ی *Pythium oligandrum* Dreschler شبه‌قارچی خاکزی از رده Oomycetes است که قادر به زندگی ساپروفیتی است ولی روی بسیاری از گونه‌های قارچی فعالیت میکوپارازیتی دارد (Plaats-Netherink, 1981; Brozova 2002). فعالیت آنتاگونیستی *P. oligandrum* یک فعالیت ساده با تولید متابولیت‌های ضد میکروبی نیست بلکه فعالیتی چند بعدی علیه گونه‌های قارچی بیماری‌زاست (Benhamou et al., 1999). در کشت

1 fluazinam

2 flusulfamide

3 Soil incorporation

4 Soil drench system

5 dinosol

6 Qinoln

*P. oligandrum* پوسیدگی بذر و بوته‌میری ناشی از *P. ultimum* و *R. solani* را به ترتیب ۷۹ و ۶۴ درصد کاهش می‌دهد (He et al., 1992). محققین گزارش کردند که کلونیزاسیون ریشه چغندر قند با بیمارگر *P. ultimum* در بذر آغشته با *P. oligandrum* نسبت به ریشه‌های تیمار نشده ۶۰ درصد کاهش پیدا می‌کند (Martin and Hancock, 1987). مطالعاتی نیز مؤثر بودن *P. oligandrum* در کنترل بیماری بوته‌میری چغندر ناشی از *R. solani* را تایید کرده‌اند (Whipps et al., 1993). مطالعات روی فرم تجاری *P. oligandrum* با نام تجاری پلی‌گاندرون® آن را در کنترل بیماری گیاهچه‌میری چغندر قند مؤثر معرفی کرده است (Vesely, 1978). کارآیی جدایه‌هایی از *P. oligandrum* در کنترل بیماری مرگ گیاهچه ناشی از *Rhizoctonia solani* بررسی و تأثیر متوسط آن را تایید شده است (Farrokhi et al., 2015). با توجه به اهمیت توسعه کنترل بیولوژیک و جایگزینی قارچ‌کش‌های آلی با عوامل بیولوژیک مؤثر در ارتقای سلامت غذایی و نیز ضرورت حفظ میکوبیوتای خاک و نیز با توجه به وجود منابع متعدد در تایید اثر گونه‌ی *P. oligandrum* در کنترل عوامل شبه قارچی بیماری‌زای خاکزاد، دسترسی به فرمولاسیون تجاری و پایدار این عامل بیولوژیک از اهمیت خاصی برخوردار است. در این تحقیق کارایی فرمولاسیون تجاری از گونه شبه قارچی *P. oligandrum* با نام تجاری پلی‌ورسوم، تولید شرکت آگریکم<sup>۱</sup> با ۱۷/۵ درصد عامل موثر و به صورت پودر با قابلیت ترشوندگی در کنترل بیماری گیاهچه‌میری ناشی از شبه گونه‌ی *P. ultimum* بررسی شد.

### مواد و روش‌ها:

کارآیی فرمولاسیون صنعتی *Pythium oligandrum* (پلی‌ورسوم®) در کنترل بیماری گیاهچه‌میری

بیمارگر و آنتاگونیست روی محیط آگار، با تماس هیف این گونه با هیف گونه‌های *Pythium ultimum* Trow، *Fusarium aphanidermatum* (Edson) Fitzp.، *Verticillium albo-atrum*، *oxysporum* Schldtl.، *Rhizoctonia solani* J.G. و Reinke & Berthold Kühn تغییراتی در ساختمان هیف این بیمارگران، شامل تجمع سیتوپلاسم و ورود هیف آنتاگونیست به آن، اتفاق می‌افتد. وقتی هیف آنتاگونیست و بیمارگر روی محیط کشت جدیدی منتقل بشود هیف آنتاگونیست رشد می‌کند در حالی که هیف بیمارگر قادر به رشد نخواهد بود (Benhamou et al., 1999). گونه‌ی *P. oligandrum* روی *R. solani* فعالیت هیپرپارازیتی دارد در حالی که فعالیت آن روی *P. ultimum* با تولید آنتی بیوتیک همراه بوده و آنتاگونیستی است (He et al., 1992). این قارچ‌سان علاوه بر هیف قارچ‌های بیماری‌زای هدف، توانایی کلونیزه کردن ریشه میزبان را داشته و موجب تحریک رشد ریشه نیز می‌گردد. فرآیند تأثیر این عامل بیولوژیک در کنترل بیماری شامل کنترل مستقیم بیمارگر و نیز تأثیر غیرمستقیم از طریق القاء مقاومت به میزبان در مقابل بیمارگر هدف است (Gerbore, et al., 2014). این قارچ‌سان به سرعت ریشه را کلونیزه کرده وارد بافت میزبان شده از طریق تحریک سیستم‌های دفاعی مقاومت میزبان را در مقابل بیمارگر افزایش می‌دهد ولی خود در بافت میزبان زنده نمانده و از بین می‌رود (Gerbore et al., 2014). گونه‌ی *P. oligandrum* از طریق تولید تریپتامین (ترکیب شبه اکسینی) و الیگاندین (السیستور گلیکوپروتئین) حفاظت گیاهان را به طریق بیولوژیکی در مقابل بیمارگر انجام می‌دهد (Vallance et al., 2009). فرمولاسیون‌های تجاری مختلفی از این عامل بیولوژیک نظیر پلی‌ورسوم (PolyVersoum®) و پلی‌گاندرون (PolyGandron®) ساخته شده‌اند (Brozova, 2002). مطالعاتی نشان داده‌اند که تیمار بذر گوجه‌فرنگی با آسپور

درجه سانتی‌گراد و تاریکی دائم قرار داده شدند. رشد عامل بیماری درون کیسه‌ها روزانه مورد بررسی قرار گرفت و پس از کلونیزه شدن کامل ترکیب درون کیسه‌ها (۷-۱۰ روز) از آنها برای تلقیح خاک سینی‌های کشت استفاده شد (شکل ۱). زادمایه تهیه شده به منظور افزایش حجم و امکان پخش یکنواخت، پیش از اختلاط با خاک به نسبت ۱ به ۹ با پیت ماس دو بار سترون مخلوط گردید. برای تهیه بستر کشت، ترکیبی متشکل از پیت ماس و پرلیت همراه با خاک رس و ماسه به نسبت ۶۰-۲۰-۱۰-۱۰ تهیه شد و در دستگاه سترون‌سازی خاک دو مرتبه به فاصله ۴۸ ساعت سترون شد. پس از تفکیک مقدار ترکیب محاسبه شده برای تیمار شاهد سالم، باقیمانده ترکیب به نسبت ۱/۱۰ با زادمایه تهیه شده مخلوط شد (Singleton et al., 1992). بستر تلقیح شده با زادمایه عامل بیماری به منظور تامین رطوبت کافی برای استقرار بیمارگر، با آب مقطر سترون به میزان ۴۰ لیتر برای هر متر مکعب خاک آب‌پاشی و با پلاستیک پوشانده شد. ترکیب تلقیح شده به مدت دو روز در دمای  $20 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد برای استقرار عامل بیماری در اطاق حرارت ثابت نگهداری شد (شکل ۲).

برای هر تیمار آزمایش، دو عدد سینی کشت با ۷۰ حجره و با ظرفیت ۱۰ لیتر در نظر گرفته شد. هر سینی با یک خط فرضی به دو قسمت ۳۵ حجره‌ای تقسیم و هر ۳۵ حجره به عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد. سینی‌های کشت با خاک تلقیح شده با عامل بیماری پر شدند. برای تیمار شاهد سالم از خاک سترون بدون تلقیح زادمایه عامل بیماری استفاده گردید.

خيار ناشی از *Pythium ultimum* Trow طی آزمایشاتی با ۱۰ تیمار و چهار تکرار (جدول ۱) در قالب طرح کاملاً تصادفی در استان‌های تهران و البرز اجرا شد.

تهیه زادمایه: برای تهیه زادمایه عامل بیماری، عامل بیماری قبل از اجرای آزمایشات از میزبان خیار با علائم گیاهچه میری روی محیط کشت‌های عمومی سیب‌زمینی-دکستروز-آگار (PDA) و آرد ذرت-آگار (CMA) جداسازی و پس از خالص‌سازی و اثبات بیماری‌زایی بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی مورد شناسایی قرار گرفت. برای تهیه زادمایه بیماری از ترکیب ورمی‌کولیت + بذر شاهدانه به نسبت وزنی ۹ به ۱ استفاده شد (تجربیات نگارنده). این ترکیب به مقدار ۵۰۰ گرم درون کیسه‌های پلاستیکی ریخته شد و انتهای کیسه‌ها پس از قرار دادن لوله پلاستیکی شماره ۲۰ به طول ۱۵ سانتی‌متر با استفاده از نوار چسب اتوکلاو بسته شد. برای مرطوب نمودن ترکیب ورمی‌کولیت + بذر شاهدانه، درون هر کیسه مقدار ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون ریخته شد و پس از به هم زدن کامل محتوی کیسه‌ها، انتهای لوله‌ها با پنبه و فویل آلومینیوم مسدود شد. کیسه‌ها دو مرتبه و به فاصله ۲۴ ساعت در اتوکلاو با حرارت ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه سترون شدند. قطعاتی به قطر ۱۰ میلی‌متر از جدایه خالص عامل بیماری روی محیط کشت PDA با استفاده از چوب پنبه سوراخ‌کن جدا شد و در هر کیسه ۱۰ قطعه قرار داده شد. کیسه‌ها پس از به هم زدن کامل برای استقرار قطعه‌های محیط کشت واجد جدایه در قسمت‌های مختلف، در انکوباتور با دمای  $22 \pm 2$

جدول ۱- تیمارهای آزمایش.

Table 1. Trial treatments.

No.	Treatments
1	<i>Pythium oligandrum</i> (Polyversum® WP) 0.2 g <sup>L-1</sup>
2	<i>Pythium oligandrum</i> (Polyversum® WP) 0.25 g <sup>L-1</sup>
3	<i>Pythium oligandrum</i> (Polyversum® WP) 0.3 g <sup>L-1</sup>
4	<i>Pythium oligandrum</i> (Polyversum® WP) 0.35 g <sup>L-1</sup>
5	<i>Pythium oligandrum</i> (Polyversum® WP) 0.4 g <sup>L-1</sup>
6	<i>Trichoderma harzianum</i> T-22 (Trianum®P) 40 g/1000 plants
7	propamocarb hydrochloride + fosetyl-aluminum SL 840 (Previcur®Energy) 3 ml <sup>L-1</sup>
8	metalaxil + mancozeb WP 72% (Rosalexil®) 2 g <sup>L-1</sup>
9	inoculated control
10	no inoculated control

گلخانه در طول دوره آزمایش بین ۶۵ تا ۷۵ درصد ثبت شد. آبیاری کرت‌های آزمایشی از طریق سینی‌های فلزی و با جذب آب از زیر انجام شد.

ارزیابی تیمارهای آزمایشی از طریق شمارش تعداد بوته‌های سالم و دارای علائم بیماری گیاهچه‌میری و محاسبه درصد وقوع بیماری در مرحله سبز شدن بذر تا مرحله چهار برگی انجام گرفت. بوته‌های آلوده از خاک خارج شدند و نسبت به بررسی علت و شناسایی عامل بیماری با انجام کشت در محیط‌های کشت عمومی اقدام شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت.

محاسبه اثربخشی تیمارها: اثربخشی هر یک از تیمارها در کاهش وقوع بیماری گیاهچه‌میری در مقایسه با تیمار شاهد آلوده با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Azimi, 2014).

$$ef = 100 - \left( \frac{\bar{x}t}{\bar{x}c} \times 100 \right)$$

در این فرمول  $ef$  اثربخشی تیمار،  $\bar{x}t$  میانگین تیمار و  $\bar{x}c$  میانگین درصد وقوع بیماری گیاهچه‌میری در تیمار شاهد آلوده است.

از هر یک از تیمارهای آزمایشی (شامل عوامل بیولوژیک و یا قارچ‌کش‌های مرجع) به میزان دو لیتر سوسپانسیون با استفاده از آب مقطر سترون (بر اساس کالیبراسیون از پیش انجام شده) تهیه شد و هر تیمار در چهار کرت با استفاده از سم‌پاش دستی دو لیتری به صورت پاشش یکنواخت روی خاک اعمال گردید.

برای اعمال تیمارهای آزمایشی در استان البرز، ابتدا در هر حجره سینی کشت یک عدد بذر پیش‌جوانه‌زده خیار رقم سوپرسلطان کشت شد و سپس اعمال تیمارهای آزمایشی در کرت‌ها صورت گرفت. اعمال تیمارها در مرحله بعد از دو برگی تکرار شد.

برای اعمال تیمارهای آزمایشی در استان تهران، ابتدا کرت‌های آزمایشی تیمار شدند و کاشت بذر پس از گذشت ۴۸ ساعت انجام شد. در این آزمایش نیز در هر حجره سینی کشت یک عدد بذر پیش‌جوانه‌زده خیار رقم سوپرسلطان کشت شد. اعمال تیمارها در مرحله بعد از دو برگی تکرار شد.

برای نگهداری و مراقبت، سینی‌های کشت در شرایط گلخانه با دمای  $25 \pm 2$  درجه سلسیوس و ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی قرار گرفتند. رطوبت نسبی



شکل ۱- مراحل مختلف انجام آزمایش: (a) تهیه زادمایه عامل بیماری با استفاده از ترکیب ورمی کولیت + بذر شاهدانه به نسبت وزنی ۹ به ۱، (b) تلقیح خاک بستر سترون با زادمایه عامل بیماری، (c) اجازه استقرار به بیمارگر، (d) کاشت بذر در کرت‌های آزمایش، (e) وقوع علائم گیاهچه‌میری در تیمار شاهد آلوده، (f) عدم وقوع گیاهچه‌میری در تیمار شاهد سالم.

Fig. 1. Different stages of testing: a) Preparation of the causative agent of the disease using the combination of vermiculit + hemp seed by weight 9:1, b) Sterile bed soil inoculation by disease agent, c) Allow the patient to establish, d) Planting seeds, e) Damping-off symptoms appearance at inoculated check treatment, f) Healthy plants at no-inoculated check.

آماري معنی‌دار در سطح یک درصد وجود دارد (جدول

۲).

### نتایج:

تجزیه واریانس درصد وقوع بیماری در آزمایش هر

دو مکان اجرا نشان داد بین تیمارهای آزمایش اختلاف

جدول ۲- تجزیه واریانس درصد وقوع بیماری در آزمایشات استان‌های البرز و تهران.

Table 2. ANOVA of the disease incidence percent at Alborz and Tehran province trials

S.O.V.	Df.	Alborz		Tehran	
		MS	F	MS	F
Treatment	9	4449.9	26.6**	2341.97	34.19**
Error	30	78.8	-	68.5	-
C.V.		10.3		24.3	

\*\* اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ وجود دارد، ns اختلاف معنی‌دار وجود ندارد.

\*\* Significant at 1% of probability levels, ns: not significant.

در آزمایش انجام شده در استان تهران، مقایسه میانگین تیمارها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد که بیشترین میانگین درصد وقوع بیماری (۴۶ درصد) در تیمار پلی‌ورسوم ۰/۲ در هزار مشاهده می‌شود. این تیمار در گروه آماری b بعد از شاهد آلوده قرار گرفت. تیمارهای پلی‌ورسوم ۰/۲۵، ۰/۳، ۰/۳ و ۰/۳۵ در هزار همراه با تیمار تریانوم پی به عنوان ماده بیولوژیک مرجع با میانگین وقوع بیماری ۴۱، ۳۳/۹، ۳۴/۶ و ۳۳/۹ در گروه آماری bc قرار گرفتند. در این مقایسه غلظت ۴ در هزار پلی‌ورسوم با میانگین وقوع بیماری ۳۱/۷ درصد در گروه آماری c قرار گرفت. در این مقایسه، قارچ‌کش‌های پرویکور انرژ و رزالاکسیل به عنوان قارچ‌کش‌های مرجع با اثربخشی بیشتر نسبت به مواد بیولوژیک به ترتیب با ۱۸/۱ و ۱۰/۳ درصد وقوع بیماری به ترتیب در گروه‌های آماری d و de قرار گرفتند. بالا بودن میانگین درصد وقوع بیماری در تیمار شاهد آلوده (۹۰/۳ درصد) نشان داد که این آزمایش در شرایط فشار بیماری بالا انجام گرفته است (جدول ۳، شکل ۳).

در آزمایش انجام شده در استان البرز، مقایسه میانگین تیمارها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد که تیمار پلی‌ورسوم ۰/۲، ۰/۲۵ و ۰/۳ در هزار همراه با تیمار تریانوم پی به عنوان ماده بیولوژیک مرجع به ترتیب با میانگین وقوع بیماری ۷۳/۱، ۷۰/۳، ۶۸/۱ و ۶۶/۷ درصد کمترین تأثیر را در مقایسه با سایر تیمارهای آزمایش در کنترل بیماری داشته‌اند و به لحاظ وقوع بیماری در بالاترین گروه آماری (گروه b) بعد از تیمار شاهد آلوده قرار گرفتند. در این مقایسه، پلی‌ورسوم ۰/۳۵ و ۰/۴ در هزار به ترتیب با میانگین وقوع بیماری ۵۶ و ۵۳/۱ درصد، کمترین وقوع بیماری را در بین تیمارهای بیولوژیک داشتند و در گروه آماری c قرار گرفتند. قارچ‌کش‌های پرویکور انرژ و رزالاکسیل به عنوان قارچ‌کش‌های مرجع به ترتیب با ۳/۱ و ۲/۴ درصد وقوع بیماری همراه با شاهد سالم در یک گروه آماری (گروه d) قرار گرفتند. بالا بودن درصد وقوع بیماری در شاهد آلوده (۹۸/۱ درصد) نشان داد که این آزمایش نیز در شرایط فشار بیماری بالا انجام گرفته است (جدول ۳، شکل ۲).

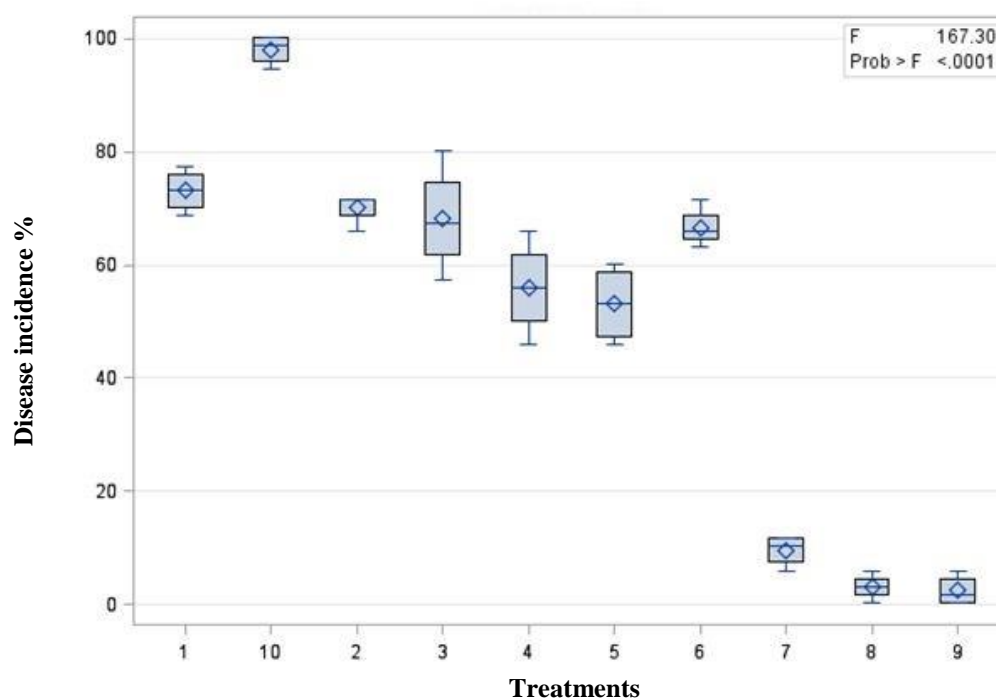
جدول ۳- مقایسه میانگین درصد وقوع بیماری و اثربخشی تیمارها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در مکان‌های اجرای آزمایشات

Table 3. Mean comparison of disease incidence percent and efficacy of treatments by Duncan Multiple Tests Range in trial locations.

Treatments	Alborz (Karaj)		Tehran (Tehran)	
	MDI%*	Eff.%**	MDI%*	Eff.%**
Polyversum® 0.2 g <sup>L-1</sup>	73.1b	25.5	46.0b	49.0
Polyversum® 0.25 g <sup>L-1</sup>	70.3b	28.4	41.0bc	54.6
Polyversum® 0.3 g <sup>L-1</sup>	68.1b	30.6	33.9bc	62.5
Polyversum® 0.35 g <sup>L-1</sup>	56.0c	42.9	34.6bc	61.7
Polyversum® 0.4 g <sup>L-1</sup>	53.1c	45.8	31.7c	64.9
Trianum®P 40g/1000 plants	66.7b	32.0	33.9bc	62.5
Previcur®Energy 3 ml <sup>L-1</sup>	9.6d	90.2	18.1d	79.9
Rosalaxil® 2 g <sup>L-1</sup>	3.1d	96.8	10.3de	88.6
not inoculated control	2.4d	-	1.0e	-
inoculated control	98.1a	-	90.3a	-

\*: میانگین وقوع بیماری، در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، اختلاف معنی‌دار ندارند، \*\*: نسبت به شاهد آلوده

\*: MDI= Mean of Disease Incidence, means with at least one similar letter in each column are not significantly different at 1% of probability levels., \*\*: Eff. = efficiency compare to inoculated control,

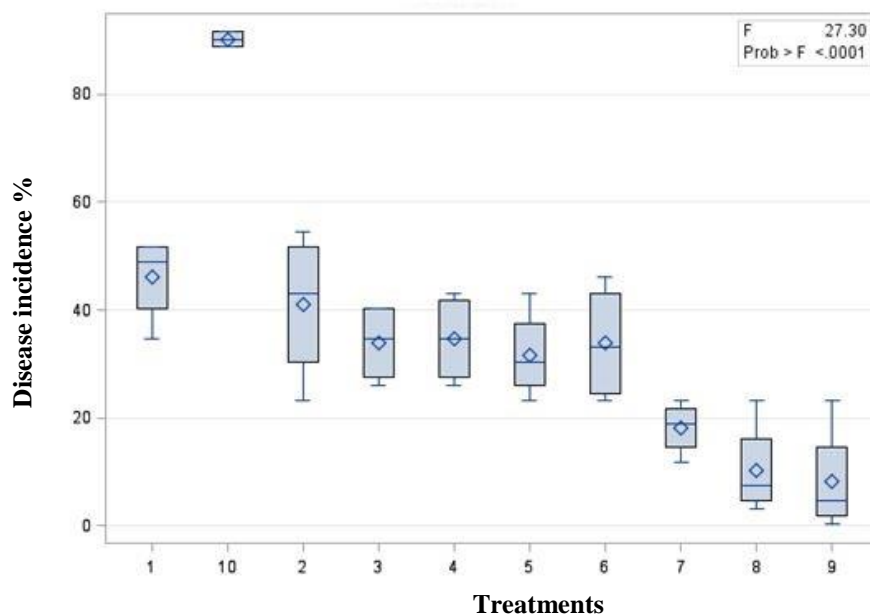


شکل ۲- وقوع بیماری گیاهچه‌میری در آزمایش انجام شده در استان البرز.

Fig. 2. Damping-of disease incidence at Alborz province trial.

Treatments: 1= Polyversum® 0.2 g<sup>L-1</sup>, 2= Polyversum® 0.25 g<sup>L-1</sup>, 3= Polyversum® 0.3 g<sup>L-1</sup>, 4= Polyversum® 0.35 g<sup>L-1</sup>, 5= Polyversum® 0.4 g<sup>L-1</sup>, 6= Trianum®P 40g/1000 plants, 7= Previcur®Energy 3 ml<sup>L-1</sup>, 8= Rosalaxil® 2 g<sup>L-1</sup>, 9= not inoculated control and 10= inoculated control





شکل ۳- وقوع بیماری گیاهچه‌میری در آزمایش انجام شده در استان تهران.

Fig. 3. Damping-of disease incidence at Tehran province trial.

Treatments: 1= Polyversum® 0.2 g<sup>L-1</sup>, 2= Polyversum® 0.25 g<sup>L-1</sup>, 3= Polyversum® 0.3 g<sup>L-1</sup>, 4= Polyversum® 0.35 g<sup>L-1</sup>, 5= Polyversum® 0.4 g<sup>L-1</sup>, 6= Trianium®P 40g/1000 plants, 7= Previcur®Energy 3 ml<sup>L-1</sup>, 8= Rosalaxil® 2 g<sup>L-1</sup>, 9= not inoculated control and 10= inoculated control

Vesely, 1989; Vesely, 1978; Whipps *et al.*, 1993; Farrokhi *et al.*, 2015) مطابقت دارد. به علاوه، ضرورت ایجاد فرصت برای استقرار عامل بیولوژیک در خاک با نتایج سایر محققین (Fletcher *et al.*, 1990) مطابقت دارد. نتایج اجرای آزمایش در استان البرز که در آن ابتدا بذر جوانه زده کشت و بلافاصله تیمار انجام گرفت و در نتیجه فرصت کافی برای استقرار عامل بیولوژیک در غیاب میزبان فراهم نشد، نشان داد که در این حالت استفاده از پلی‌ورسوم® سطح کنترل ضعیف تا متوسطی را در کنترل بیماری گیاهچه‌میری ناشی از *P. ultimum* فراهم می‌کند. در این آزمایش، استفاده از پلی‌ورسوم® بین حداقل ۲۵/۵ درصد در غلظت ۰/۲ در هزار و حداکثر ۴۵/۸ درصد در غلظت ۰/۴ در هزار نسبت به شاهد آلوده در کاهش وقوع بیماری مؤثر بود. این نتایج در راستای نتایج تحقیقات انجام شده است (He *et*

## بحث:

در این تحقیق کارآیی فرمولاسیون صنعتی *Pythium oligandrum* Drechsler با نام تجاری پلی‌ورسوم® و با فرمولاسیون پودر قابل تعلیق در آب در کنترل بیماری گیاهچه‌میری ناشی از *Pythium ultimum* Trow بررسی شد. نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از پلی‌ورسوم با غلظت ۰/۲ تا ۰/۴ در هزار مشروط بر استقرار در خاک بستر کشت، کنترل متوسط تا خوبی را در مقابل آلودگی به *P. ultimum* فراهم می‌کند. به طوری که در آزمایش انجام شده در استان تهران که فرصت استقرار در خاک به عامل بیولوژیک قبل از کاشت بذر داده شد، اثربخشی پلی‌ورسوم® در کنترل بیماری نسبت به شاهد آلوده بین حداقل ۴۹ درصد برای تیمار ۰/۲ در هزار و حداکثر ۶۴/۹ درصد برای تیمار ۰/۴ در هزار متغیر بود. این نتایج با نتایج تحقیقات انجام شده دیگر محققین (He *et al.*, 1992)

بیولوژیک با در نظر گرفتن مقدار آب خروجی از نازل تیپ (حداکثر ۵۰ میلی‌لیتر به ازای هر نازل) (تجربیات نگارنده) تهیه شود و پس از محاسبه زمان لازم برای استفاده از ماده بیولوژیک در سیستم، پس از پایان دوره آبیاری به تدریج در اختیار گیاه قرار داده شود. در استفاده از مواد بیولوژیک در سیستم‌های آبیاری نواری، شستشوی مخزن قبل از تهیه سوسپانسیون ماده بیولوژیک به طوری که اثری از قارچ‌کش‌های مورد استفاده در سیستم باقی نمانده باشد، ضروری است.

بیماری‌های گیاهچه‌میری و بوته‌میری خیار در کشت‌های مزرعه‌ای و گلخانه‌ای از اهمیت بالایی برخوردارند. از این رو توصیه می‌شود با بازدیدهای مرتب از گلخانه‌ها و زمین‌های دارای سابقه آلودگی، با مشاهده اولین علائم بیماری نسبت به اعمال روش‌های مدیریتی اقدام گردد. در بسترهایی با سابقه آلودگی به بیماری‌های گیاهچه‌میری و بوته‌میری، استفاده از پلی‌ورسوم® در غلظت‌های توصیه‌شده قبل از کاشت، به کنترل بیماری بدون نیاز به استفاده از قارچ‌کش‌ها منجر خواهد شد. با توجه به نقش آب آزاد خاک در گسترش بیماری‌های گیاهچه‌میری و بوته‌میری، استفاده از بسترهایی با زه‌کش مناسب برای کاشت توصیه می‌شود. بدیهی است نتایج حاصل از انجام این آزمایش علاوه بر خیار برای سایر گیاهان جالیزی در گلخانه‌ها و فضای باز قابل تعمیم است. باید توجه داشت که استفاده از پلی‌ورسوم "همانند سایر عوامل بیوکنترل قارچی" در بسترهایی که قبلاً در آنها از قارچ‌کش استفاده شده است توصیه نمی‌شود.

(al., 1992). از آنجایی که یکی از مکانیسم‌های کنترل قارچ‌های جنس *Pythium* توسط گونه‌ی *P. oligandrum* از طریق ورود به ریشه و فعال‌شدن مکانیسم‌های دفاعی گیاه میزبان است (Gerbore et al., 2014)، در کشت‌های نشایی استفاده از پلی‌ورسوم® قبل از انتقال نشاء به بستر اصلی، در سینی‌های کشت نشاء می‌تواند در کنترل بهتر بیماری در بستر اصلی مؤثر باشد. نتایج حاصل از اجرای این تحقیق در استان‌های تهران و البرز نشان داد که استفاده از فرمولاسیون صنعتی *Pythium oligandrum* Drechsler (پلی‌ورسوم®) با غلظت ۰/۳ تا ۰/۴ در هزار در دو نوبت (نوبت اول دو روز قبل از کاشت بذر و نوبت دوم بین مرحله ۲ تا ۴ برگی) همراه با آب آبیاری (soil drench system)، بیماری گیاهچه‌میری و بوته‌میری ناشی از شبه قارچ‌های متعلق به جنس *Pythium* را در گیاهان جالیزی کنترل می‌کند. برای استفاده از این ماده بیولوژیک در سینی‌های تولید نشاء ۷۰ حجره‌ای، لازم است مقدار یک لیتر از سوسپانسیون تهیه شده از ماده بیولوژیک را با استفاده از سم‌پاشی که نازل آن باز شده به آرامی در خاک پخش شود. برای استفاده در سطح گلخانه و یا مزرعه می‌توان سوسپانسیون ماده بیولوژیک را با استفاده از سم‌پاشی که نازل آن باز شده به صورت شره‌ای در پای بوته و حداکثر به مقدار ۵۰ میلی‌لیتر برای هر بوته استفاده کرد. برای این منظور لازم است پس از انجام آبیاری و پس از آن که آب آبیاری به‌طور کامل زه‌کش شد، نسبت به استفاده از سوسپانسیون ماده بیولوژیک به‌روش ذکر شده اقدام شود. در سیستم‌های آبیاری نواری بهتر است سوسپانسیون ماده

## References:

- Alavi, A. 1973.** Cucurbits damping-off. Iranian Journal of Plant Disease. 9(2): 37-49.
- Alavi, A. and Saber, M. 1986.** The role of alternative hostes in overwintering of *Phytophthora drechsleri*. Proceedings of 8<sup>th</sup> Plant Protection Congress of Iran, Isfahan, 30 Aug.-4 Sept. 1986. P: 82.
- Alavi, A. and Strange, R. N. 1979.** A baiting technique for isolating *Phytophthora drechsleri*, causal agent of crown rot of *Cucumis* spp. in Iran. Plant Disease Reporter. 63(12): 1084-1086.
- Azimi, H. 2013.** Study on the effect of metalaxyl-mancozeb (Rossalaxil WP 72%) in the control of cucumber damping-off disease (*Phytophthora drechsleri* Tuckers) in field and glasshouse cultures. Pesticides in Plant Protection Sciences. 1(2): 125-136. [In Persian with English Abstract]
- Azimi, H. 2014.** Effect of chlorothalonil and famoxadone + cymoxanil in control of early blight disease of tomato under field conditions. Applied Research in Plant Protection. 3(1): 35-48. [In Persian with English Abstract]
- Azimi, H. and Shahryari, D. 2015.** Effect of propamocarb hydrochloride + fosetyl aluminum in control of cucumber damping-off disease in field and greenhouse. Applied Researches in Plant Protection. 2(4): 87-98. [In Persian with English Abstract]
- Azimi, H., Shahryari, D. and Fasihyani, A. R. 2010.** An investigation on the effects of Agri-Fos 400 fungicide on crown rot decay of cucumber. Final report of Iranian Research Institute of Plant Protection, No: 89/1452, 19 pp. [In Persian with English Abstract]
- Azimi, H., Zaker, M. and Dehghan, L. 2017.** Research final report of: An investigation on the efficacy of Beltanol (cinosol SL 37.5%) on damping-off disease of cucumber caused by *Phytophthora melonis*. Agriculture Research, Education and Extension Organization, Iranian Research Institute of Plant Protection, No: 55582, 21 Pp. [In Persian with English Abstract]
- Babadoost, M. and Islam, S. Z. 2003.** Fungicide seed treatment effects on seedling damping-off of pumpkin caused by *Phytophthora capsici*. Plant Dis. 87(1): 63-68.
- Benhamou, N., Rey, P., Picard, K. and Tirilly, Y. 1999.** Ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction between the mycoparasite *Pythium oligandrum* and soil borne plant pathogens. Phytopathology. 89(6): 506-517.
- Brozova, J. 2002.** Expolitation the mycoparasitic fungus *Pythium oligandrum* in plant protection. Plant Protection Science. 38(1): 29-35.
- Cheah, L. H., Page, B. B. C. and Koolaard, J. P. 1998.** Soil-Incorporation of fungicides for control of clubroot of vegetable brassicas. Proc. 51st New Zealand Plant Protection Conf. Pages 130-133.
- Ershad, D. J. and Shirzadi, G. 1969.** Cucurbits damping-off in Iran. Iranian Journal of Plant Disease. 5 (2): 38-45.
- Erwin, D. C. and Ribeiro, O. K. 1996.** Phytophthora Diseases Worldwide. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Etebarian, H. R. 1978.** Study on the damping-off disease of cucurbits and its control at Varamin and Garmsar. Final report of Ministry of Science, Research and Technology, Pajoohandeh. (4): 148-174.
- Farrokhi, F., Hajian Shahri, M. Salari, M. and Rouhani, H. 2015.** The efficacy of *Pythium oligandrum* in the biological control of *Rhizoctonia solani*, the causal agent of sugar beet damping-off under greenhouse conditions. Journal of BioControl in Plant Protection. 3(1): 57-71.
- Fletcher, J. T., Smewin, B. J. and Brien, A. 1990.** *Pythium oligandrum* associated with a cropping disorder of *Agaricus bisporus*. Plant Pathology. 39(4): 603-605.
- Gerbore, J., Benhamou, N., Vallance, J., Le Floch, G., Grizard, D., Regnault-Roger, C. and Rey, P. 2014.** Biological control of plant pathogens: advantages and limitations seen through the case study of *Pythium oligandrum*. Environmental Science and Pollution Research. 21(7): 4847-4860.
- He, S. S., Zhang, B. X. and Ge, Q. X. 1992.** On the antagonism by hyperparasite *Pythium oligandrum*. Acta Phytopathologica. (22): 77-82.
- Holmes, G. J., Lancaster, M. E., Rodriguez, R. J. and Redman, R. S. 2001.** Relative susceptibility of cucurbit and solanaceous drops to *Phytophthora* blight. Phytopathology 91: S39. Publication No. P – 2001 – 0283 – AMA.

- Khan, J., Ooka, J. J., Miller, S. A., Madden, L. V. and Hoitink, H. A. J. 2004.** Systemic resistance induced by *Trichoderma hamatum* 382 in cucumber against phytophthora Crown rot and leaf blight. *Plant Dis.* (88): 280-286.
- Martin, F. N. and Hancock, J. G. 1987.** The use of *Pythium oligandrum* for biological control of damping-off caused by *P. ultimum*. *Phytopathology.* (77): 1013-1020.
- McGrath, T. 2001.** Phytophthora Blight of cucurbits. Department of Plant Pathology, Long Island Horticultural Research and Extension Center.
- Plaats-Niterink, A. J. 1981.** Monograph of the Genus *Pythium*. *Studies in Mycology.* (21): 1-244.
- Shahryari, D. and Azimi, H. and Nasre-Esfahani, M. 2014.** Study on the efficacy of proplant fungicide on controlling of *Pythium aphanidermatum*, the causal agent of cucumber damping off in greenhouse. Final report of Iranian Research Institute of Plant Protection, No: 46477. 26 pp.
- Sharifi – Tehrani, A. and Nazari, S. 1995.** The effect of *Trichoderma harzianum* on *Phytophthora drechsleri*. The Causal agent of cucumber damping-off. *Proceedings of 13<sup>th</sup> International Plant Protection Congress.* The Hague, Netherlands: 0558.
- Singleton, L., Mihail, J. D. and Rush, C. M. 1992.** *Methods for Research on Soilborne Phytopathogenic Fungi.* APS Press: St Paul, MN.
- Strange, R. N., Alavi, A. and Strobel, G. A. 1981.** Disease and Phytoalexin Production in Cucurbits caused by *Phytophthora drechsleri*. International Symposium, Phytophthora, its biology, ecology and pathology. Department of Plant Pathology, University of California, Riverside. April 1-4. 1980-p: 70.
- Vallance, J., Floch, G. L., Déniel, F., Barbier, Lévesque, C. A. and Rey, P. 2009.** Influence of *Pythium oligandrum* biocontrol on fungal and Oomycete population dynamics in the rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology.* 7 (14): 4790-4800.
- Vesely, D. 1978.** Parasitic relationships between *Pythium oligandrum* and some other species of the oomycetes class. *Zentralblatt für Bakteriologie.* (133): 341-349.
- Vesely, D. 1989.** Biological control of damping-off pathogens by treating sugar-beet seed with a powdery preparation of the mycoparasite *Pythium Oligandrum* in large-scale field trials. *Developments in Soil Science.* (18): 445-449.
- Whipps, J. M., McQuilken, M. P. and Budge, S. P. 1993.** Use of fungal antagonist for biocontrol of damping-off and sclerotiana disease. *Pesticide Science.* (37): 307-319.

## Efficacy of the Commercial Product of *Pythium oligandrum* (Polyversum®) Against Cucumber Damping-off Disease, Caused by *Pythium ultimum*

Azimi, H.<sup>1\*</sup> and Naeimi, Sh.<sup>2</sup>

1. Department Research, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. 2. Department of Biologic Control Research, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

Received: Agu, 13, 2020

Accepted: Jan, 10, 2021

### Abstract:

Fungicides and biological symbionts are effective tools in integrated management of damping-off disease of cucumber, which is one of the most important disease of this crop. In this study the efficacy of the commercial product of *Pythium oligandrum* (Polyversum®) to control cucumber damping-off disease caused by *Pythium ultimum* was studied. The experiment was carried out in a Completely Randomized Design with 10 treatments and 4 replications under greenhouse conditions in Tehran and Karaj. Treatments included 0.2, 0.25, 0.3, 0.35 and 0.4 gL<sup>-1</sup> of Polyversum (WP 17.5%) as the target bio-fungicide, 40 g/1000 plants of commercial product of *Trichoderma harzianum* T-22 (Trianum-P®) as standard bio-fungicide, PrevicurEnergy 3 mL<sup>-1</sup> and Rosalaxil® 2 gL<sup>-1</sup> as standard fungicides. Bio-fungicides were used immediately after planting in Karaj and 48 hours before planting in Tehran, and in both the regions treatments were repeated at two-leaf stage. Mean comparisons revealed that Polyversum® at the rate of 0.2, 0.25, 0.3, 0.35 and 0.4 gL<sup>-1</sup> decreased the disease incidence by 25.5, 28.4, 30.6, 42.9 and 45.8% in Karaj and 49, 54.6, 62.5, 61.7 and 64.9% in Tehran compared with the inoculated control respectively. In these trials TrianumP® decreased the disease incidence by 32 and 62.5% compared with the inoculated control in Karaj and Tehran respectively. PrevicurEnergy® and Rosalaxil® decreased the disease incidence by 90.2 and 96.8% in Karaj and 79.9 and 88.6% in Tehran trials respectively. This study revealed that the creation of an opportunity for the establishment of the biocontrol agents in the soil could increase their efficacy.

**Keywords:** Biocontrol, Fosetyl aluminum, Mancozeb, Metalaxil, Propamocarb hydrochloride, Trianum

---

\* Corresponding author: Hossein Azimi, Email: [hazimi61@yahoo.com](mailto:hazimi61@yahoo.com)