

گزارش کوتاه

بررسی مقاومت دیسک‌های غده‌ای سیب‌زمینی تحت درجه حرارت‌های مختلف به منظور کنترل بیماری پوسیدگی نرم باکتریایی سیب‌زمینی

حسین پاسالاری^{*۱}

۱- ^{*}نویسنده مسوول: استادیار بخش کشاورزی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، مجتمع آموزش عالی میناب، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران
(hpsalary@yahoo.com)

تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۰/۰۲

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۷/۱۱

چکیده

بیماری پوسیدگی نرم باکتریایی سیب‌زمینی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های باکتریایی سیب‌زمینی محسوب می‌شود. در مطالعه حاضر درجه مقاومت سه رقم سیب‌زمینی آلوده شده توسط سویه‌های مختلف بیمارگرهای سیب‌زمینی (Pc ، Pa و Dd) تحت درجه حرارت‌های مختلف (۱۸، ۲۸ و ۳۳ درجه سانتی‌گراد) بررسی شد. ارقام سیب‌زمینی رقم اسکارب^۱، وتراز^۲ و رقم ادیسای^۳ برای آلودگی با باکتری‌ها استفاده شد. آزمایش‌ها بصورت فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد و وزن بافت له شده هر دیسک بر حسب میلی‌گرم اندازه‌گیری شد. در این پژوهش رقم ادیسای یک رقم حساس و رقم اسکارب یک رقم نیمه مقاوم به بیمارگرهای بیماری‌زای سیب‌زمینی تشخیص داده شد. تعداد نسخه‌های کپی mRNA از دیسک‌های غده‌ای سیب‌زمینی آلوده شده با بیمارگرهای بیماری‌زا تحت درجه حرارت‌های ذکر شده، شمارش شده و بیان ژن‌های Pathogenesis related genes (PR) و ژن‌های پاسخ دفاعی سیب‌زمینی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد هنگامی که سیب‌زمینی به باکتری‌های پکتولیتیک آلوده شود، القاء ژن‌های $PR-3$ ، $PR-5t$ و $PR-10$ رخ می‌دهد. در دیسک‌های غده‌ای رقم مقاوم سیب‌زمینی، میزان بیان ژن $PR-5t$ به طور قابل توجهی هم در حالت آلوده شدن با باکتری و هم بدون آلودگی، بالاتر از انواع حساس بود. نتایج نشان داد که بین بیان ژن $PR-5t$ در دیسک‌های غده‌ای سیب‌زمینی نیمه مقاوم و مقاومت آن‌ها در برابر بیماری پوسیدگی نرم باکتریایی در درجه حرارت‌های مختلف اعمال شده ارتباط معنی‌داری وجود دارد.

کلیدواژه‌ها: باکتری‌های پکتولیتیک، درجه حرارت، بیماری‌زایی، ژن‌های وابسته به بیماری‌زایی

1- Scarb
2- Vetrax
3- Odyssey

دبیر تخصصی: دکتر میلاد آیینی

مقدمه

سیب‌زمینی از جمله محصولات مهمی است که نقش مهمی در تغذیه مردم جهان دارد (Hoque, 2010). این گیاه در طول دوران رشد و پس از برداشت با مشکلات عدیده‌ای مواجه می‌شود که از جمله آن‌ها بیماری‌های باکتریایی است که می‌تواند عامل محدودکننده کاشت این گونه در منطقه محسوب شود (Muslim Khani and Mozaffari, 2015). باکتری‌های پکتولیتیک پکتوباکتریوم کارتوروم^۱، پکتوباکتریوم اتروسپتیکوم^۲ و دیکیا دادانتی^۳ این توانایی را دارند که باعث ایجاد تخریب بافت سیب‌زمینی در ارقام مختلف، در طول فصل رشد و در طول انبار شوند. خاصیت اصلی باکتری‌های ذکر شده، توانایی ترشح تعدادی آنزیم دپلمراز کننده خارج سلولی (پکتولیتیک، سلولزی و پروتولیتیک) است که به عنوان فاکتورهای بیماری‌زایی این باکتری‌ها عمل می‌کنند (Tratsiakova, 2011). مقاومت گیاه در برابر بیمارگرها نتیجه ترکیبی پیچیده از خصوصیات ساختاری گیاهان و واکنش‌های بیوشیمیایی ناشی از آن است. خصوصیات ساختاری شامل کوتیکول و دیواره سلولی است که به عنوان مانع فیزیکی برای جلوگیری از نفوذ و گسترش عوامل بیماری‌زا عمل می‌کند (Agrios, 2005; Farahbakhsh and Massah, 2015). علاوه بر این، واکنش‌های دفاعی القایی گیاهان وجود دارند، از جمله تولید مولکول‌های سیگنالینگ مانند اسید سالسیلیک، اتیلن و جاسمونیک اسید، سنتز گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن، فسفوریلاسیون و دفسفوریلاسیون پروتئین‌های خاص (Senthil-Kumar and Mysore, 2013; Gholamnejad, 2017; Zeighaminejad and Sharifi Sirchi, 2013)، فنیل پروپانویدها، فیتوآلکسین‌ها

و پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زا^۴. نتیجه نهایی تعامل میزبان و بیمارگر یا یک بیماری (ناسازگاری) یا مقاومت گیاه (سازگاری) است و به ترکیبی از عوامل مختلف، شامل خصوصیات ژنتیکی و وضعیت فیزیولوژیکی گیاه و بیمارگر و همچنین برخی شرایط محیطی از جمله نور، دما، رطوبت و سایر موارد بستگی دارد (Agrios, 2005). پروتئین‌های مربوط به بیماری‌زا، در پاسخ به عوامل استرس و عفونت با یک بیماری‌زا بیان می‌شوند. (Sinha et al., 2014). پروتئین‌های PR در تشکیل مقاومت اکتسابی سیستمیک^۵ در گیاهان نقش دارند (Ahangar et al., 2016; Gholamnejad, 2017). نقش پروتئین‌های PR در بیماری‌زایی قابل توجه و متنوع است. مقاومت در برابر بیماری خاص نیاز به عمل ژن‌های مکمل در روابط فعال گیاه-بیمارگر و عملکرد فعال ژن‌های مقاومت مربوطه دارد (Gholamnejad, 2017). از تأثیرات دما در اثر متقابل عوامل بیماری‌زا با گیاهان و القای ژن‌های مقاومت اطلاعات زیادی در دست نیست. برای محافظت از سیب‌زمینی در برابر بیماری‌های شایع مانند ساق سیاه و پوسیدگی مرطوب که در اثر گونه‌های جنس پکتوباکتریوم و دیکیا ایجاد می‌شوند، یا باید انواع و اقسام ارقام مقاوم در برابر این باکتری‌ها پرورش داده شود، یا به طرق مختلف با این باکتری‌ها مبارزه شود (Tratsiakova, 2011). در پژوهش حاضر سعی شده است که ارتباطی بین تجمع پروتئین‌های PR و توسعه مقاومت به دست آمده طی آلوده‌سازی سلول‌های بافت غده‌ای سیب‌زمینی با بیمارگرهای باکتریایی در درجه حرارت‌های مختلف به منظور کنترل موثر بیماری پوسیدگی مرطوب سیب‌زمینی صورت گیرد.

-
- 1- *Pectobacterium cartovorum*
 - 2- *Pectobacterium atrosepticum*
 - 3- *Dickeya dadantii*

-
- 4- Pathogenesis related proteins
 - 5- Systemic acquired resistance

له شده وزن شد. آزمایش‌ها بصورت فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد و وزن بافت له شده هر دیسک بر حسب میلی گرم اندازه گیری شد. داده‌های آماری بدست آمده با تجزیه و تحلیل واریانس، مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن و با کمک نرم افزار Excel 2013 پردازش شدند.

جداسازی RNA از بافت غده‌های سیب‌زمینی

بافت‌های غده سیب زمینی (صد میلی گرم) با نیتروژن مایع به یک توده همگن هموژن شدند. توده‌های همگن شده به اپندورف منتقل شدند. استخراج RNA طبق روش استاندارد با استفاده از کیت تجاری NucleoSpin RNA Plant (Macherey-Nagel، آلمان) انجام شد.

سنتز cDNA

از RNA کل جدا شده برای سنتز cDNA با استفاده از کیت تجاری سنتز RevertAid™ First Strand cDNA (Fermentas، لیتوانی) مطابق دستورالعمل سازنده استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در زمان واقعی (RT-PCR) با استفاده از تقویت کننده‌های تشخیص دهنده DT-96 (DNA-Technology، روسیه) و جفت‌های آغازگر مربوطه انجام شد و مقدار نسبی کپی‌های mRNA توسط فرمول $N(mRNA) = 2^{(Act-min(Act))}$ تعیین شد (Livak and Schmittgen, 2001).

نتایج و بحث

تأثیر دما بر خصوصیات بیماری‌زایی باکتری‌های پکتولیتیک *Pc*، *Pa* و *Dd* با بافت غده‌های سیب‌زمینی و تعیین مقاومت ارقام مختلف سیب‌زمینی

پس از آلودگی دیسک‌های غده‌ای سیب‌زمینی با کشت سلولی باکتری‌ها، سلول‌ها در ظروف پتری با دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد (شاهد)، ۲۸ درجه سانتی‌گراد و ۳۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند و پس

مواد و روش‌ها

ارقام سیب‌زمینی و سویه‌های باکتری استفاده- شده

از باکتری‌های پکتوباکتریوم کارتووروم^۱، سویه‌های A₂ و A₁₄، پکتوباکتریوم اتروسیپتیکوم^۲، سویه‌های A₂₁ و A₃₆، و دیکیدا/دانتی^۳ ENA₄₉ استفاده شد. ارقام سیب‌زمینی رقم اسکارب، وتراز و رقم ادیسی برای آلودگی با باکتری‌ها استفاده شد. برای رشد سویه‌های مختلف باکتری‌های استفاده شده از محیط LB با ترکیبات (پپتون، ده گرم، عصاره مخمر، پنج گرم، کلرید سدیم، پنج گرم و آب مقطر استریل شده تا حجم یک لیتر) استفاده شد. از محلول فیزیولوژیکی با ترکیب کلرید سدیم ۸/۵ گرم و آب مقطر استریل شده تا حجم یک لیتر پس از اتوکلاو نمودن، برای رشد و رسوب جسم سلولی باکتری‌ها استفاده شد.

تعیین میزان رشد و جمعیت باکتری‌ها و تعیین وزن مقدار بافت له شده سیب‌زمینی

سویه‌های باکتریایی به مدت بیست ساعت در محیط LB در دمای بیست‌وهشت درجه سانتی‌گراد رشد داده شدند. تعیین تعداد باکتری‌ها با شمارش کلنی‌ها در دو روز و هر سه ساعت پس از آلودگی انجام شد. این آزمایش‌ها در پنج تکرار انجام و از نظر آماری پردازش شد. دیسک‌های سیب‌زمینی در روی فیلترهای مرطوب شده در ظروف پتری گذاشته شد. دیسک‌ها با ده میکرولیتر سوسپانسیون باکتریایی با حداکثر حدود ۱۰^۶ سلول در هر دیسک پوشانده شدند و سپس دیسک‌ها به مدت بیست‌وچهار ساعت با دمای هیجده درجه سانتی‌گراد (شاهد)، بیست‌وهشت درجه سانتی‌گراد و سی‌وسه درجه سانتی‌گراد در ظروف پتری نگهداری شدند و پس از آن توده بافت

1- *Pectobacterium carotovorum*
2- *Pectobacterium atrosepticum*
3- *Dickeya dadantii*

یافت. رقم وتراز در همه دماها مقاومت بیشتری نسبت به رقم اسکارب داشت. با اطلاعاتی که از جدول یک و نتایج تجزیه واریانس حاصل شد می‌توان عنوان کرد که رقم ادیسای نسبت به رقم وتراز یک رقم حساس به بیماری پوسیدگی باکتریایی سیب‌زمینی می‌باشد و برای عفونت به این باکتری‌ها بیشتر مستعد می‌باشد. می‌توان عنوان داشت که رقم ادیسای یک رقم حساس به بیماری پوسیدگی باکتریایی سیب‌زمینی در همه دماها بوده و رقم اسکارب یک رقم نیمه مقاوم نسبت به رقم وتراز که یک رقم مقاوم است، می‌باشد.

اندازه‌گیری کمی ژن‌های PR سیب‌زمینی

در شکل یک و دو، تعداد نسبی کپی mRNA ژن‌های PR-3، PR-5t و PR-10 در سلول‌های بافت غده‌های سیب‌زمینی‌های آلوده شده در طی نگه‌داری در دماهای مختلف نشان داده شده است.

از آن وزن توده له شده هر دیسک بر حسب میلی‌گرم تعیین شد. هر آزمایش به صورت سه تکرار انجام شد و داده‌ها از نظر آماری پردازش شدند. جدول دو مقایسه میانگین میزان له‌شدگی (وزن) دیسک‌های غده‌ای ارقام مختلف سیب‌زمینی بعد از آلودگی با باکتری‌های فوق‌را نشان می‌دهد. نتایج تجزیه و تحلیل واریانس نشان داد که ارقام مختلف سیب‌زمینی در درجات مختلف، حساس به پوسیدگی باکتریایی هستند و این اختلاف بین ارقام مطالعه شده سیب‌زمینی و بین تیمارهای دمایی مختلف در همه موارد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱). غده‌های رقم ادیسای به‌طور معنی‌داری نسبت به غده‌های اسکارب یا وتراز بیشتر حساس به عفونت هستند. علاوه بر این، در همه دماها، سویه‌های پکتوباکتریوم به‌طور معنی‌داری بافت‌های مختلف رقم ادیسای را تا حد بیشتری نسبت به اسکارب پوسیده کردند و با افزایش دما، درجه پوسیدگی افزایش

جدول ۱- آنالیز واریانس تاثیر درجه حرارت بر میزان له‌شدگی (وزن) بافت غده‌ای ارقام مختلف سیب‌زمینی

Table 1. Variance analysis of effect of temperature on macerated weight of tuber discs of Potato Cultivars

Groups	Count	Sum	Average	Variance		
Vetraz18	5	1320	264 ^a	1698.5		
Vetraz28	5	2850	570 ^d	159658.5		
Vetraz33	5	4628	925.6 ^c	102221.3		
Scarb18	5	1926	385.2 ^{bc}	3708.7		
Scarb28	5	3384	676.8 ^{ab}	238435.7		
Scarb33	5	5465	1093 ^{ab}	110248.5		
Odyssay18	5	3044	608.8 ^d	46426.2		
Odyssay28	5	5749	1149.8 ^c	195667.7		
Odyssay33	5	6033	1206.6 ^d	85537.3		
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	4709533	8	588691.7	5.614891	0.000121	2.208518
Within Groups	3774410	36	104844.7			
Total	8483943	44				

- در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد ندارند.

- Means followed by the same letter in the columns are not significantly different at (p>0.05).

جدول ۲- مقایسه میانگین مقدار له شدگی (وزن) دیسک‌های غده‌ای ارقام مختلف سیب زمینی بعد از آلودگی با باکتری‌های

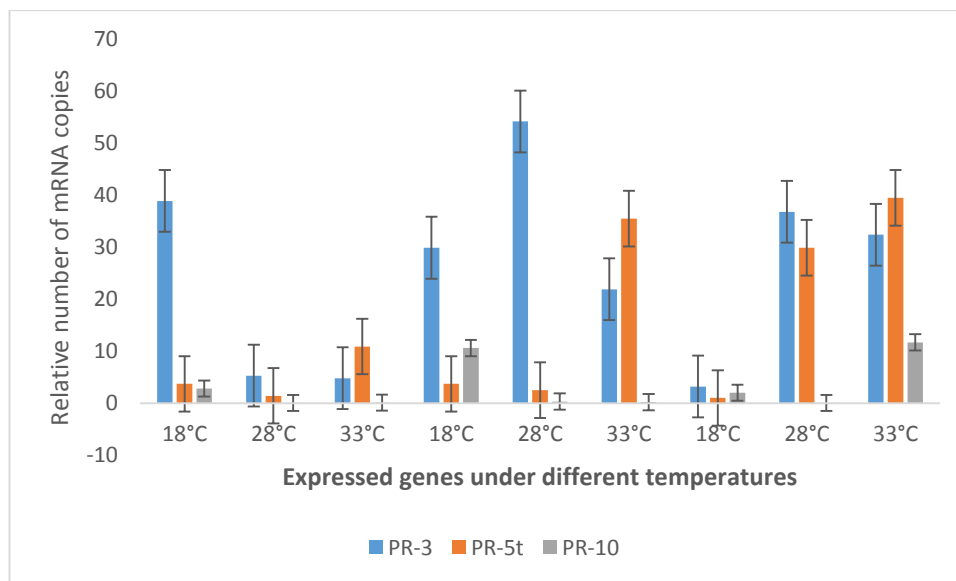
Dickeya dadantii و *Pectobacterium atrosepticum* *Pectobacterium carotovorum*

Table 2. Mean comparison of macerated weight of tuber discs of Potato Cultivars after infection with bacteria, *Pectobacterium carotovorum* *Pectobacterium atrosepticum* and *Dickeya dadantii*

Temperature (°C)	Bacterial strains	Number of macerated tissue of one disk, mg		
		Vetraz	Ckarb	Odyssay
18°C	21 A	260.1±17.9 ^d	410.3±21.3 ^b	815.8±21.7 ^d
	36 A	254.3±52.8 ^{ab}	462.1±18.5 ^c	629.3±16.5 ^a
	2 A	293.5±19.2 ^c	391.9±22.2 ^a	809.4±26.3 ^c
	14 A	203.7±14.3 ^a	296.1±24.6 ^c	319.3±20.9 ^a
	ENA49	310.8±17.9 ^b	367.3±19.7 ^d	472.9±18.8 ^b
28°C	21 A	360.8±10.8 ^b	528.5±30.5 ^{ac}	1195.1±30.3 ^b
	36 A	451.9±7.9 ^c	420.0±15.7 ^{ab}	775.6±42.2 ^{bc}
	2 A	372.0±31.5 ^{ab}	537.1±47.8 ^{bc}	1314.1±128.9 ^d
	14 A	1282.0±27.4 ^{bc}	1540.4±17.9 ^{ad}	1780.8±19.3 ^{bc}
	ENA49	385.0±21.2 ^{cd}	359.6±66.3 ^{ab}	685.9±18.1 ^c
33°C	21 A	706.2±21.1 ^{ac}	646.3±26.8 ^d	919.3±49.1 ^{ac}
	36 A	721.9±51.7 ^d	912.7±59.5 ^d	926.1±41.2 ^d
	2 A	899.3±20.0 ^d	1165.0±24.6 ^d	1221.1±21.9 ^{ab}
	14 A	822.1±27.6 ^b	1215.9±15.1 ^b	1367.6±16.6 ^d
	ENA49	1480.5±30.1 ^a	1527.6±35.1 ^c	1600.4±40.5 ^{ad}

- در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد ندارند.

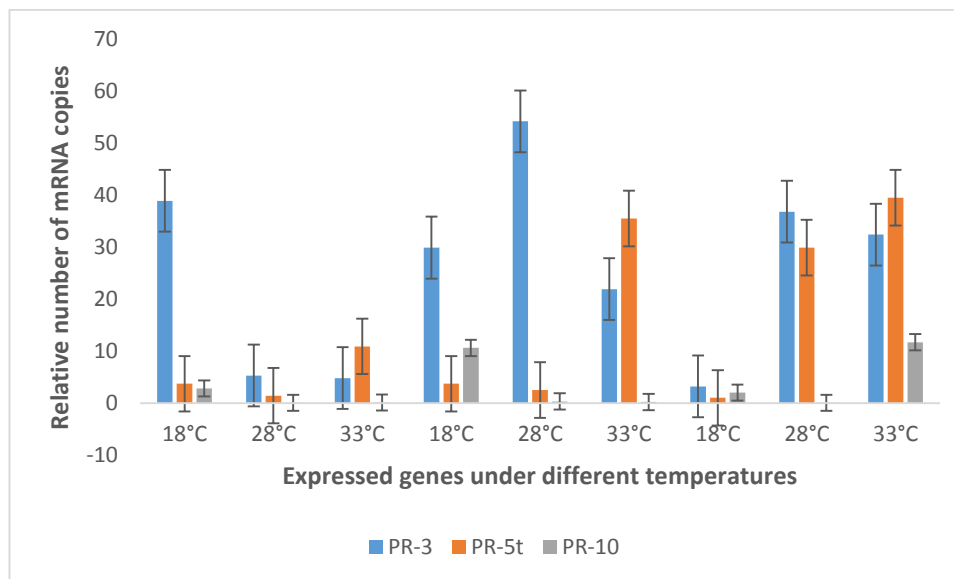
- Means followed by the same letter in the columns are not significantly different according to LSD test (p>0.05).



شکل ۱- سطح بیان ژن‌های PR-3، PR-5t و PR-10 در سلول‌های بافت‌های غده‌های سیب‌زمینی رقم *Odyssay*، آلوده شده با

باکتری‌ها، تحت درجه حرارت‌های ۱۸، ۲۸ و ۳۳ درجه سانتی‌گراد

Figure 1. Expression levels of genes *PR-10*, *PR-5t*, *PR-3* in tuber discs, of Potato Cultivar, *Odyssay*, under temperatures of 18, 28 and 33 ° C, infected with strains of bacteria



شکل ۲- سطح بیان ژن‌های *PR-3*، *PR-5t* و *PR-10* در سلول‌های بافت‌های غده‌های سیب‌زمینی رقم *Scarab*، آلوده شده با باکتری‌ها، تحت درجه حرارت‌های ۱۸، ۲۸ و ۳۳ درجه سانتی‌گراد

Figure 2. Expression levels of genes *PR-10*, *PR-5t*, *PR-3* in tuber discs, of Potato Cultivar, *Scarab*, under temperatures of 18, 28 and 33 °C, infected with strains of bacteria

دیگر بود (Tratsiakova, 2011). همچنین نتایج بررسی ما نشان داد که قدرت بیماری‌زایی باکتری *Pc* (افزایش وزن سلول‌های له شده بافت‌های غده‌ای سیب‌زمینی) در مقایسه با *Pa* تحت دمای ۲۸ درجه بالاتر می‌باشد که این نتایج با داده‌های محققین بر روی سیب‌زمینی آمریکایی تطابق دارد (Wolters and Collins, 1994). پس از نگهداری سیب‌زمینی‌های آلوده در دمای ۳۳ درجه سانتی‌گراد، نتایج نشان داد که سویه‌های *PC* نسبت به *Pa* قدرت بیماری‌زایی بیشتری دارند ($P < 0.01$). آزمایش‌ها نشان داد که ارقام سیب زمینی مطالعه شده با درجات مختلفی تحت تأثیر پوسیدگی نرم باکتریایی قرار می‌گیرند. داده‌های به دست آمده نشان می‌دهد که در طول آزمایش برای ایجاد مقاومت در برابر پوسیدگی نرم باکتریایی در انواع سیب‌زمینی، باید فاکتور دما، اثر بحرانی دما و آزمایش‌های انجام شده را در نظر گرفت. درجه حرارت تأثیر قابل توجهی در شدت بیماری‌زایی باکتری‌های

بالاترین سطح بیان برای ژن *PR-3* در رقم اسکارب و *PR-10* در رقم ادیسی مشاهده شده بود. بیان ژن *PR-3* در رقم اسکارب با افزایش دما افزایش یافت، همان‌طور که بیان ژن *PR-5t* نیز وجود دارد.

بالاترین سطح القای بیان ژن، برای ژن *PR-3* در بافت غده‌های رقم ادیسی مشاهده شد که با سویه‌های *Pc2A*، *Pa 36A* وقتی در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و ۳۳ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند، آلوده شدند. ژن *PR-10* به میزان بیشتری در بافت غده‌های سیب‌زمینی رقم ادیسی در دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد القاء شد. در دماهای بالاتر، بیان این ژن به شدت کاهش یافته بود (شکل ۲). درجه حرارت تا حد زیادی، در فعالیت له شدگی *Dd* تأثیر داشت: در دمای ۳۳ درجه سانتی‌گراد، میزان له شدگی بافت به میزان قابل توجهی افزایش یافته بود (حدود ۴ برابر در رقم ادیسی). این الگو درباره افزایش قابل توجه در بیماری‌زایی *Dd* با افزایش دما، مطابق با داده‌های برخی از محققین

پکتولیتیک آلوده می‌شود، القاء یک سری ژن‌های PR به‌ویژه PR-3، PR-5t و PR-10 رخ می‌دهد. القاء ژن PR-10 به واسطه عفونت Pa و Pc در دمای پایین (۱۸ درجه سانتی‌گراد) تحریک می‌شود. در سلول‌های غده‌ای رقم مقاوم، میزان بیان ژن PR-5t به طور قابل توجهی هم در حالت آلوده شدن با باکتری و هم بدون آلودگی، بالاتر از رقم حساس است. بین میزان بیان ژن PR-5t در بافت غده‌های سیب زمینی و مقاومت آن‌ها در برابر بیماری پوسیدگی نرم باکتریایی ارتباط وجود دارد.

سپاس‌گزاری

بر خود لازم می‌دانم از کلیه همکاران در آزمایشگاه زیست مولکولی دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه دولتی بلاروس بخصوص استاد راهنمای بزرگوار پروفیسور آناتولی نیکلایویچ یوتوشنکوف که در اجرای پایان‌نامه همکاری صمیمانه‌ای داشتند کمال تشکر و قدردانی داشته باشم.

پکتولیتیک Pa، Pc و Dd دارد. برای باکتری‌های Pa درجه حرارت ۲۸ درجه سانتی‌گراد برای ایجاد بیماری‌زایی مطلوب است و برای Dd درجه حرارت ۳۳ درجه سانتی‌گراد. پایین آمدن درجه حرارت تا ۱۸ درجه سانتی‌گراد تأثیری در شدت بیماری‌زایی Pa ندارد، اما خاصیت بیماری‌زایی را در باکتری‌های Pa و Dd کاهش می‌دهد. مقاومت گیاهان به عوامل بیماری‌زا، ارتباط مستقیمی با بیان ژن‌های وابسته به بیمارگر و ژن‌های دفاعی دارد. گیاهان با بیان ژن‌های پاسخ دفاعی و ژن‌های PR و با ایجاد یک مقاومت سیستمیک در مقابل بیمارگرها واکنش نشان می‌دهند. هنگامی که سیب‌زمینی به باکتری‌های پکتولیتیک آلوده می‌شود، القاء انواع ژن‌های وابسته به بیمارگر و ژن‌های پاسخ دفاعی سیب زمینی رخ می‌دهد که این امر با نتایج دیگر محققین در ارتباط با مکانیسم‌های مقاومت گیاهان به بیمارگرها از طریق القای ژن‌های پاسخ دفاعی همسویی دارد (Tratsiakova, 2011; Pasalari and Yevtushenkov, 2016). نتایج آزمایش‌ها نشان داد هنگامی که سیب‌زمینی به باکتری‌های

REFERENCES

- Agrios, G.N. 2005. Plant pathology. 6th ed. Amsterdam: Elsevier. 922 p.
- Ahangar, L., Babaezad, V., Ranjbar, Gh. A., Najafi Zarrini, H., and Biaban, A. 2016. Study of PR Gene Expression Pattern related to in Induced Resistance to Powdery Mildew in Susceptible Wheat Genotype after Treating with Salicylic Acid. Journal of Crop Breeding, 8(17): 208-218.
- Farahbakhsh, F. and Massah, A. 2015. Genetic of resistance to plant disease. Plant Pathology Science, 4: 64-74.
- Gholamnejad, J. 2017. Plants defense mechanisms against pathogens. Plant pathology science, 6(2): 24-32.

Hoque, M.E. 2010. *In vitro* tuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). Journal of Plant Biology, 3(1): 7-11.

Livak, K.J., and Schmittgen, Th.D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ Method. Methods, 25(4): 402-408.

Muslim Khani, K., and Mozaffari, J. 2015. Disease management of Potato bacterial wilt with tuber healthy measurement. Knowledge of Plant Pathology, 5(1): 62-75.

Pasalari, H., and Yevtushenkov, A.N. 2016. Expression of protective response genes in transgenic potato leaves after glyphosate treatment. Bulletin of BSU, 1: 31.

Senthil-Kumar, M., and Mysore, K.S. 2013. Nonhost resistance against bacterial pathogens: retrospectives and prospects. Annual Review Phytopathology, 51: 407-27.

Sinha, M., Singh, R.P., Kushwaha, G.S., Iqbal, N., Singh, A., Kaushik, S., Kaur, P., Sharma, S., and Singh, T.P. 2014. Current Overview of Allergens of Plant Pathogenesis Related Protein Families. The Scientific World Journal, 1-19. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/543195>.

Tratsiakova, V. 2011. Temperature dependence of PR genes expression and potato tissues maceration by strains *Pectobacterium* and *Dickeya*. Youth and Progress of Biology. Abstracts book of the VII International Scientific Conference of Students and PhD Students, Minsk, Belarus, P. 141.

Wolters, P., and Collins, W. 1994. Evaluation of diploid potato clones for resistance to tuber soft rot induced by strains of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*, *E. carotovora* subsp. *carotovora* and *E. chrysanthemi*. Potato Research, 2: 143-149.

Zeighaminejad, R., and Sharifi Sirchi, Gh.R. 2013. Study of PR gene expression and activity of effective enzymes in induced resistance to powdery mildew by salicylic acid. Journal of agriculture biotechnology, 5(1): 97-110.



© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

Short communication**Evaluating the resistance of Potato tubers under different temperatures related to Potato bacterial soft rot disease control**H. Pasalari*¹

1.***Corresponding Author:** Assistant professor, Agriculture Department, Production engineering and plant breeding Group, Minab Higher Education Center, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran (hpsalary@yahoo.com)

(DOI): 10.22055/ppr.2020.16267

Received: 2 October 2020

Accepted: 22 December 2020

Abstract**Background and objectives**

Potato bacterial soft rot is considered one of the most common bacterial diseases of Potato. Soft rot of potatoes was caused by a range of bacteria worldwide, such as *Pectobacterium carotovorum subspecies carotovorum*, *Pectobacterium atrosepticum*, and *Dickeya* species. The bacteria mainly attack the fleshy storage organs of their hosts (tubers, corms, bulbs, and rhizomes), they also affect succulent buds, stems, and petiole tissues. Controlling the disease is not always so effective, sanitary practices in production, storing, and processing which can be done to slow the spread of disease and protect yields. Little information is available on the effect of temperature on pathogen interaction with plants and the induction of PR genes. In the present study, an attempt was made to establish a relationship between the accumulation of PR proteins and the development of resistance obtained by infecting Potato tuberculosis cells with bacterial pathogens at different temperatures to effectively control potato bacterial soft rot disease.

Materials and methods

Pectobacterium carotovorum, strains A₂ and A₁₄, *Pectobacterium atrosepticum*, strains A₂₁ and A₃₆, and *Dickeya-dadantii* ENA49 were used. Potato cultivars *Scarab*, *Vetraz*, and *Odyssay*, were used for the bacterial infection. The experiment was factorial with three replications based on a completely randomized design. The macerated tissue weight was measured in mg per disc. In other experiment, the relative value of mRNA copies of studying genes was determined in potato tuber cells of two semi resistant and susceptible cultivars which infected with bacterial strains of *Pectobacterium carotovorum* 2A, *Pectobacterium atrosepticum* 36A, and *Dickeya dadantii* ENA49 which were incubated under temperatures of 18, 28 and 33 °C.

Results

Odyssay cultivar of Potato as a susceptible cultivar and *Scarab* cultivar as a semi-resistant cultivar to Potato pathogens under different temperatures (18°C, 28°C and 33°C) were

identified. When potatoes are infected with pectolytic bacteria, the genes PR-3, PR-5t and PR-10 were expressed. In tubers and leaves of resistant potato cultivars, the level of PR-5t gene expression is significantly higher than that of susceptible cultivars, when infected with bacteria and without infection. There is a correlation among expression levels of PR-5t gene in the tissues of potato tubers with their resistance to bacterial soft rot.

Discussion

Several pathogens usually attack plants. Different defence pathways in plants have evolved in reaction to the pathogens. These defence mechanisms can be stimulated and activated by some microorganisms or chemicals. Temperature can be considered a virulence factor. It has a significant effect on the pathogenicity of pectolytic bacteria *Pc*, *Pa*, and *Dd*. Plant resistance to pathogens is directly related to pathogenesis expression related genes and defence response genes. When potatoes are infected with pectolytic bacteria, the induction of pathogenesis related genes and Potato defence response genes occurs which is in consistent to other researchers' findings on plant resistance mechanisms to pathogens through the induction of defence response genes. The experimental results showed that when potatoes are infected with pectolytic bacteria, the induction of several PR genes occurs, especially PR-3, PR-5t, and PR-10. The induction of the PR-10 gene is stimulated by the infection of *Pc* and *Pa* at low temperature (18 °C).

Keywords: *Pectolytic Bacteria, Temperature, Virulence, PR genes*