برهمکنش قارچ *Colletotrichum coccodes* و باکتری *Ralstonia solanacearum* روی سه رقم سیب‌زمینی*

INTERACTIONS BETWEEN *Colletotrichum coccodes* AND *Ralstonia solanacearum* ON THREE POTATO CULTIVARS

مریم فضلی[۱]، غلام خداکرمیان[۱]**، دوستمراد ظفری[۱] و عزیز باقری[۲]

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۹/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۸/۱۰)

چکیده

قارچ *Colletotrichum coccodes* و باکتری *Ralstonia solanacearum* از جمله عوامل بیماری‌زای مهم سیب‌زمینی در استان همدان هستند. در این پژوهش اثر متقابل این دو بیمارگر با استفاده از دو روش آغشته‌سازی، روی سه رقم سیب‌زمینی شامل آگریا، بورن و دیامانت مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز نتایج حاصل با نرم‌افزار SAS نشان داد که حضور هم‌زمان دو بیمارگر در گیاه روی یکدیگر اثر تشدیدکننده (هم افزایی) داشته و طول، وزن تر و خشک ساقه و ریشه را بیشتر کاهش می‌دهند. درصد پرگنه‌سازی ریشه گیاه توسط میکرواسکلروت قارچ *C. coccodes* در رقم آگریا نسبت به سایر ارقام مورد بررسی بیشتر و بین ۵۰ تا ۷۰ درصد بود. در این رقم وجود قارچ *C. coccodes* باعث افزایش خسارت باکتری شد. در مجموع رقم آگریا نسبت به سایر ارقام مورد بررسی در برابر قارچ *C. coccodes* حساس‌تر بود. در رقم بورن حساسیت گیاه نسبت به دو عامل بیماری‌زای فوق یکسان و پرگنه‌سازی ریشه توسط میکرواسکلروت‌های قارچ ۵۰ درصد بود. در رقم دیامانت در بیشتر موارد تیمار آلوده به باکتری از لحاظ آماری با تیمار شاهد (گیاه غیرآلوده) در یک گروه قرار گرفت که نشان‌دهنده توان بیماری‌زایی کم باکتری روی این رقم و وجود مقاومت نسبی است. به علاوه، پرگنه‌سازی ضعیف ریشه سیب‌زمینی در رقم دیامانت توسط میکرواسکلروت قارچ *C. coccodes* گویای مقاومت نسبی این رقم در برابر قارچ عامل بیماری خال سیاه سیب‌زمینی است.

واژه‌های کلیدی: *C. coccodes*، *R. solanacearum*، آگریا، بورن، دیامانت

*: بخشی از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد نگارنده اول، ارائه شده به دانشگاه بوعلی سینا، همدان

**: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: khodakaramian@yahoo.com

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد و دانشیاران بیماری‌شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۲. عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی همدان

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

باکتری *R. solanacearum* یک بیمارگر خاکبرد و عامل مهم محدودکننده کشت بسیاری از گیاهان در سرتاسر جهان می‌باشد و در سیب‌زمینی عامل بیماری پژمردگی باکتریایی و پوسیدگی قهوه‌ای است *آگریوس* (Agrios 1997). این باکتری برای اولین بار در اواخر قرن نوزدهم از روی سیب‌زمینی، توتون، گوجه‌فرنگی و بادام‌زمینی از آسیا، امریکای جنوبی و جنوب ایالات متحده گزارش شد. بیش از ۲۷۰ گونه گیاهی شامل گیاهان تک‌لپه و دولپه متعلق به حدود ۵۰ خانواده مورد حمله این باکتری قرار می‌گیرند *هیوارد* (Hayward 1994 & 1995). در بین گیاهان دو لپه، بیشترین میزبان‌ها به ترتیب از خانواده‌های Solanaceae، Asteraceae و Leguminoseae هستند. از گیاهان تک‌لپه‌ای خانواده‌های Musaceae، Trelitziaceae، Heliconiaceae، Cannaceae و Zingiberaceae را می‌توان نام برده (Bradbury 1986).طبق نظر *باقری خیرآبادی*(۱۹۹۳) و *قیاسی و تقوی*(۲۰۰۲) علائم بیماری شامل زردی، توقف رشد، پژمردگی و مرگ سریع گیاه است. این بیماری در بسیاری از استان‌های کشور خصوصاً در مناطق جنوبی به شدت به محصول سیب‌زمینی خسارت وارد نموده است *باقری خیرآبادی*(۱۹۹۳) و *قیاسی و تقوی* (۲۰۰۲).

گروه دیگری از عوامل بیماری‌زای سیب‌زمینی، قارچ‌ها به ویژه قارچ *Colletotrichum coccodes* است. گونه‌های *Colletotrichum* (حدود ۴۰ گونه) باعث ایجاد آنتراکنوز روی ساقه، برگ و میوه تعداد زیادی از گیاهان مانند غلات، گراس‌ها، لگومینوزها، میوه‌ها و سبزیجات و انواع گیاهان علفی می‌شوند *دوکن* (Dokken 2007). بیماری خال سیاه سیب‌زمینی که سبب ایجاد خسارت و لکه روی غده و شاخ و برگ گیاه سیب‌زمینی می‌شود توسط قارچ *C. coccodes* ایجاد می‌شود. گزارشات اولیه مبنی بر وجود این بیماری در سیب‌زمینی و گوجه‌فرنگی به اوائل قرن نوزدهم برمی‌گردد و جزئیات بیماری درآن زمان توسط *دیکسون*(Dickson 1926) شرح داده شد. علائم بیماری شامل زردی و پژمردگی شاخ و برگ، پوسیدگی ریشه، ساقه‌های زیرزمینی و استولون‌ها و در نهایت مرگ سریع گیاه می‌باشد. این بیماری و عامل آن، اولین بار در ایران در سال ۱۹۵۵ از باسمنج تبریز توسط Sharif جمع‌آوری و شناسایی شد. در سال *۱۹۶۴نیمان* (Nimman 1964)، کارشناس آلمانی وزارت کشاورزی، در اقلید فارس از سیب‌زمینی‌هایی که دچار بوته‌میری شده بودند، قارچ *C. coccodes* را جدا و گزارش نمود. *ظفری* (۱۹۹۱)، اثر آنتاگونیستی قارچ تریکودرما را روی این قارچ بررسی کرده و بیان نموده است که موضوع قابل توجه در مورد اثبات بیماری‌زایی *C. coccodes* به وجود آوردن خشکی برای حمله و تسریع علائم می‌باشد و تنش‌های آبی یکی از عوامل مؤثر در پیشرفت بیماری خال سیاه به شمار می‌رود.

تاکنون تحقیقی راجع به واکنش دو بیمارگر مورد نظر صورت نگرفته است اما تحقیقات فراوانی در مورد اثر متقابل سایر بیمارگرها روی کاهش عملکرد و دیگر ویژگی‌های رشدی گیاهان انجام گرفته است. *باتمن* (Bateman 1961 & 1975)، *پنیوال و گاداوسکاس* (Beniwal & Gadauskas 1972)، *فارلی و لاکوود* (Farely & Lockwood 1964) *و مولن و باتمن* (Mullen & Bateman 1975) در بررسی‌های خود نشان داده‌اند که علائم ناشی از *Verticillium dahliae* یا *Fusarium* spp. در گوجه‌فرنگی در حضور ویروس موزائیک توتون تغییر کرده است که در نوشته‌های *تاناسولوپولوس* (Thanassoulopoulos 1976) نیز آمده است. برهم‌کنش *Meloidogyne artiellia* و نژاد

www.SID.ir

F. oxysporum f.sp. *ciceri*۵ در نخود توسط *کاستیلو* و *همکاران* (Castillo *et al.* 2003) مورد مطالعه قرار گرفته و مشخص شد در ژنوتیپ‌های دارای مقاومت نسبی به *F. oxysporum*، آلودگی به نماتد به طور قابل توجهی باعث افزایش شدت پژمردگی باکتریایی در گیاه گردیده است. *رید* و *همکاران* (Reid *et al.* 1999) نیز در برهم‌کنش بین *F. graminearum* و *F. moniliforme* و اثر آنها روی پیشرفت بیماری، توده زنده قارچی و تجمع مایکوتوکسین را در ذرت مورد بررسی قرار دادند. با توجه به اهمیت اقتصادی سیب‌زمینی در استان همدان از یک سو و خسارت شدید دو بیماری پژمردگی باکتریایی و خال‌سیاه از سوی دیگر، در این تحقیق سعی گردیده بیماری‌زایی باکتری*R. solanacearum* و قارچ *C. coccodes* و تأثیر حضور توأم دو بیمارگر در سه رقم مختلف سیب‌زمینی مورد بررسی و بحث قرار گیرد.

روش بررسی

نمونه‌برداری

در بهار، تابستان و پاییز سال ۲۰۰۷ از مزارع سیب‌زمینی در مناطق کشت این محصول در استان همدان شامل بهار، رزن و کبودرآهنگ بازدید شد. نمونه‌های غده و ساقه سیب‌زمینی مشکوک به آلودگی به بیماری‌های خال سیاه و پژمردگی باکتریایی به صورت ضربدری از مزارع جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها درون پاکت‌های کاغذی با ذکر محل و تاریخ جمع‌آوری به آزمایشگاه منتقل و تا زمان کشت در یخچال نگهداری شدند.

جداسازی جدایه‌های باکتری *R. solanacearum*

غده‌ها و ساقه‌های آلوده سیب‌زمینی ابتدا با آب شسته شده و پس از خشک شدن به اتاق کشت منتقل شدند. ابتدا سطح ساقه‌ها و غده‌ها با اتانول ۷۰٪ ضدعفونی شد. ساقه‌های گیاه با استفاده از اسکالپل سترون و کنار شعله به قطعات کوچکی تقسیم گردیدند. قطعات بریده شده درون پتری‌دیش حاوی آب مقطر سترون به مدت ۱۵- ۱۰ دقیقه قرار داده شدند. پس از خروج باکتری از ساقه، یک لوپ سترون از سوسپانسیون باکتری به روش مخطط کردن روی محیط کشت سیب‌زمینی آگار حاوی ۰/۰۵٪ تری فنیل تترازولیوم کلراید (TTC) کشت داده شد. جهت جداسازی باکتری، غده‌های آلوده از وسط برش داده شده و از حلقه آوندی آنها به همین روش باکتری کشت شد. پتری‌ها در انکوباتور با دمای۳۰- ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از دو روز، کلونی‌های باکتری به صورت بزرگ، برآمده، لعاب‌دار، به رنگ سفید یا دارای مرکزی به رنگ قرمز روشن ایجاد شد. جهت بررسی خصوصیات ظاهری کلونی و مقایسه کلونی‌های بیماری‌زا و غیربیماری‌زا، از محیط کشت TTC استفاده گردید. شناسایی جدایه‌ها براساس بررسی خصوصیات بیوشیمیایی ارایه شده توسط *شاد* و *همکاران* (Schaad *et al.* 2001) انجام گرفت.

جداسازی جدایه‌های قارچ

بخش‌هایی از ریشه گیاه سیب‌زمینی که دارای علائم بیماری بودند، از گیاه جدا شده و با آب به خوبی شسته و در اتاق کشت به قطعات کوچکی به اندازه پنج میلی‌متر شامل بافت سالم و آلوده تقسیم شدند. پس از ضد عفونی با محلول هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت ۱ الی ۱/۵ دقیقه، دو بار با آب مقطر سترون شستشو داده شدند. قطعات سپس روی کاغذ صافی سترون خشک شده، تعداد پنج قطعه از آنها روی محیط کشت سیب‌زمینی- دکستروز- آگار (PDA) قرار داده شد و در دمای ۲۸- ۲۵ درجه سانتی‌گراد در تاریکی نگهداری شدند. شناسایی جدایه‌ها براساس خصوصیات

Archive of SID

www.SID.ir

ماکروسکوپی و میکروسکوپی آنها در محیط کشت PDA و با استفاده از کلید شرح گونه‌های پذیرفته شده *Colletotrichum* *ساتن* (Sutton 1992) انجام گرفت.

تهیه سوسپانسیون باکتری *R. solanacearum*

برای تهیه سوسپانسیون، استرین‌های باکتری روی محیط PDA کشت داده شدند. پس از ۴۸ ساعت باکتری به‌وسیله لوپ سترون از سطح محیط جمع‌آوری گردید و داخل ارلن حاوی آب مقطر سترون ریخته شد. غلظت سوسپانسیون در طول موج ۶۰۰ نانومتر روی OD=0.1 تنظیم شد. این سوسپانسیون حاوی حدود 10^9 سلول باکتری در میلی‌لیتر (10^9 CFU/ml) بود.

اثبات بیماری‌زایی باکتری *R. solanacearum*

۱۵ استرین مختلف باکتری جدا شده از مناطق جغرافیایی مختلف و دارای خصوصیات ظاهری متفاوت انتخاب و برای انجام آزمون بیماری‌زایی آنها از گیاه گوجه‌فرنگی استفاده گردید. وقتی اندازه بوته‌ها به حدود ۲۰- ۱۵ سانتی‌متر رسید، آزمون بیماری‌زایی باکتری مطابق روش *وینستید و کلمان* (Winstead & Kelman 1952) با مایه‌زنی ۴۰- ۳۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری با چگالی نوری یک دهم (۰/۱ =OD600) در بافر فسفات ۱۰ mM (۷ =pH) یا آب مقطر، به ساقه گیاهان در محل انشعابات، انجام گرفت. در گیاه شاهد از آب مقطر سترون استفاده گردید. برای هر استرین سه تکرار در نظر گرفته شد. پس از گذشت یک تا دو هفته بوته‌ها از لحاظ وجود علائم پژمردگی مورد بررسی قرار گرفتند.

تهیه اینوکولوم قارچ *C. coccodes*

تهیه اینوکولوم قارچ روی دانه‌های گندم انجام گرفت. دانه‌های گندم خیسانده شده به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شدند. در شرایط سترون قطعاتی از پرگنه تازه قارچ به دانه‌های گندم اضافه و در دمای مناسب رشد قارچ (۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد. پس از ۲۰ روز گندم‌های کلونیزه شده از شیشه خارج و به مدت دو روز در معرض هوای آزاد قرار داده شدند. اینوکولوم پس از خشک شدن تا زمان استفاده درون یخچال قرار داده شد.

تهیه سوسپانسیون اسپور قارچ *C. coccodes*

جهت تهیه سوسپانسیون اسپور قارچ، مقداری آب مقطر استریل به پتری حاوی قارچ اضافه شد. به منظور رها شدن اسپورها درون آب مقطر، سطح محیط به کمک یک لام سترون به آرامی خراشیده شد. برای پراکنده شدن یکنواخت اسپورها، محلول فوق به مدت ۵ دقیقه توسط ورتکس مخلوط و به منظور جداسازی قطعات هیف، سوسپانسیون حاصله از یک لایه پارچه ململ سترون عبور داده شد. سپس به وسیله لام هموسیتومتر تعیین غلظت گردید و بعد تا رقت مورد نظر یعنی 3×10^5 اسپور در میلی‌لیتر رقیق شد (Nitzan *et al* 2002).

اثبات بیماری‌زایی قارچ *C. coccodes*

با استفاده از خصوصیات مورفولوژیکی نظیر رنگ سطح رویی و سطح زیرین پرگنه، وجود یا عدم وجود میسلیوم هوایی و هم‌چنین با در نظر گرفتن مناطق نمونه‌برداری تعداد هفت جدایه غربال و آزمایش با سه تکرار انجام گرفت. به منظور انجام آزمون بیماری‌زایی روی گیاه سیب‌زمینی، غده‌های بذری سیب‌زمینی رقم گرانولا به دلیل ایجاد گیاهچه‌های ضعیف، انتخاب و درون گلدان کاشته شدند. پس از گذشت دو هفته خاک کنار غده را

www.SID.ir

کنار زده و مقدار ۱۵- ۱۰ گرم از اینوکولوم قارچ که روی دانه گندم تهیه شده بود، به خاک اضافه گردید. در گلدان شاهد از دانه گندم اتوکلاو شده استفاده گردید. پس از گذشت دو ماه بوته‌ها از خاک بیرون آورده شده و ریشه‌های آنها از لحاظ میزان بیماری به روش *هیلمان* و *همکاران* (Heilmann *et al*. 2006) مورد بررسی قرار گرفت.

آزمون بر هم‌کنش قارچ و باکتری در بررسی‌های گلخانه‌ای

در زمان کاشت غده‌های سیب‌زمینی، مایه تلقیح عوامل بیماری‌زا به دو روش آغشته‌سازی غده و اضافه کردن به خاک مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور انجام آزمایش از یک جدایه قارچ، یک استرین باکتری، دو روش آغشته‌سازی و سه رقم سیب‌زمینی استفاده گردید. به منظوراضافه کردن اینوکولوم قارچ *C. coccodes* به خاک مقدار ۱۰ گرم از اینوکولوم آماده شده جدایه قارچ روی دانه‌های گندم، توسط ترازو وزن و در داخل گلخانه با خاک گلدان به خوبی مخلوط شد به نحوی که به طور یکنواخت در همه قسمت‌های گلدان وجود داشته باشد. برای آغشته‌سازی خاک توسط باکتری *R. solanacearum* به هر گلدان مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری (OD=۰/۱) اضافه شد. داخل هر یک از گلدان‌ها سه عدد غده سیب‌زمینی جوانه زده کاشته شد.

در روش آغشته‌سازی غده‌های سیب‌زمینی با قارچ *C. coccodes* و باکتری *R. solanacearum* از سوسپانسیون باکتری با OD= ۰/۱ و سوسپانسیون اسپور قارچ با غلظت ۳×۱۰^{۵} اسپور در میلی‌لیتر به عنوان مایه تلقیح استفاده گردید. جهت آغشته‌سازی غده‌ها، مقداری از سوسپانسیون، به طوری که کاملاً روی غده‌ها را بگیرد، داخل ظروف سترون ریخته شد. غده‌ها به مدت ۱۵ دقیقه داخل این سوسپانسیون غوطه‌ور گردیده و به مدت ۲۴ ساعت در هوای آزاد در داخل اتاق قرار داده شدند. پس از این مدت، غده‌ها در گلدان‌های مربوطه کاشته شدند. در گلدان‌های شاهد از بذر گندم سالم و آب مقطر استفاده شد. برای هر یک از ارقام سه گلدان به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. گلدان‌ها داخل گلخانه، در شرایط نوری و دمایی مناسب (نور کافی و دمای ۳۰- ۲۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفتند. بعد از گذشت دو ماه از کاشت، بوته‌ها از خاک بیرون آورده شده و طول ساقه، طول ریشه، وزن تر و خشک ساقه و ریشه، تعداد و وزن غده و درصد پرگنه‌سازی ریشه توسط میکرواسکلروت قارچ در آنها به دقت اندازه‌گیری و یادداشت گردید. این آزمایش در قالب یک طرح فاکتوریل۲×۲ (سطح A جدایه قارچ و سطح B جدایه باکتری) با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی و با ۹ تیمار و ۹ شاهد سالم انجام شد و هر تیمار دارای سه تکرار بود. نتایج حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه گردید. داده‌های مربوط به ارقام مختلف به صورت جداگانه مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج

شناسایی باکتری *R. solanacearum*

براساس خصوصیات بیوشیمیایی ذکر شده در کتاب Schaad (۲۰۰۱) و همچنین *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* (۲۰۰۴) و انجام آزمون فوق حساسیت در توتون، تعداد ۳۰ استرین جدا شده از مناطق مختلف استان همدان، نژاد ۳، بیووار ۲ باکتری *Ralstonia solanacearum* تشخیص داده شدند. تست‌های فنوتیپی انجام گرفته جهت شناسایی باکتری در جدول ۱ و تست‌های بیوشیمیایی انجام گرفته جهت شناسایی بیووار باکتری در جدول ۲ آمده است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱. خصوصیات فنوتیپی استرین‌های باکتری *R. solanacearum* جدا شده از مناطق سیب‌زمینی کاری استان همدان

Table 1. Phenotypic characteristics of *R. solanacearum* strains isolated from potato growing area in Hamedan Province

خصوصیت (Characteristic)	واکنش (Reaction)
واکنش گرم (Gram reaction)	-
فوق حساسیت در توتون (HR)	+
رنگدانه نفوذپذیر (Diffusible pigment)	+
کاتالاز (Catalase)	+
اکسیداز (Oxidase)	+
آرژینین دی‌هیدرولاز (Arginine dihydrolase)	-
احیاء نیترات (Nitrate reduction)	-
رشد در ۴۱ درجه سانتی‌گراد (Growth at 41 °C)	-
تولید اسید از (Oxidation of:)	
گالاکتوز (Galactose)	+/V
گلیسرول (Glycerol)	+W
مانوز (Mannose)	+/V
سلوبیوز (Cellobiose)	V
سوربیتول (Sorbitol)	V
سوکروز (Sucrose)	+
گلوکز (Glucose)	+
مانیتول (Mannitol)	V
ال- رامنوز (L-Rhamnose)	-
دی- فوکوز (D-Fucose)	-
دی- رافینوز (D-Raffinose)	-
دی- آرابینوز (D-Arabinose)	-
ترهالوز (Trehalose)	V
لوولینات (Levulinate)	V
بنزوات (Benzoate)	V
ان- پروپانول (n-Propanol)	+
بتا- آلانین (β-Alanine)	V
بتایین (Betaine)	-
ال- آرژینین (L-Arginine)	-
ال- لایزین (L-Lysine)	-
هپتانوات (Heptanoate)	-
دی- تارتارات (D-Tartarate)	-/V

+ = واکنش مثبت؛ - = واکنش منفی؛ V = واکنش متغیر؛ W = واکنش ضعیف

+= positive reaction; -= negative reaction; V= variable; W= weak

www.SID.ir

جدول ۲. آزمون‌های تعیین بیووار باکتری *R. solanacearum*

Table 2. Tests for biovar determination in *Ralstonia solanacearum*

استفاده از: (Utilization of:)	Biovar 1	Biovar 2	Biovar 3	Biovar 4	Biovar 5
مالتوز (Maltose)	−	+	+	−	+
لاکتوز (Lactose)	−	+	+	−	+
سلوبیوز (Cellobiose)	−	+	+	−	+
مانیتول (Mannitol)	−	−	+	+	+
سوربیتول (Sorbitol)	−	−	+	+	−
دولسیتول (Dolcitol)	−	−	+	+	−

شناسایی قارچ *C. coccodes*

طبق نظر ساتن (۱۹۹۲) با توجه به شکل ظاهری کلونی، اندازه اسکلروت، اسپور و اپرسوریوم، ۷۰ جدایه قارچی به دست آمده از مناطق مختلف استان همدان، قارچ *C. coccodes* تشخیص داده شدند. روی محیط PDA پرگنه‌ها در اوائل تشکیل کرم رنگ هستند و اغلب به سطح محیط چسبیده‌اند. به تدریج میکرواسکلروت‌ها از مرکز پرگنه ایجاد و در تمام سطح پراکنده می‌شوند. در نهایت در اثر تشکیل میکرواسکلروت‌ها سطح پرگنه سیاه رنگ می‌شود. به منظور بررسی ویژگی‌های میکروسکوپی، جدایه‌های مورد نظر روی محیط PCA کشت داده شدند. کنیدیوم‌ها مستقیم، دوکی شکل و تک سلولی هستند و پهنای آنها کمی در وسط کم می‌شود. اندازه آنها ۳/۶–۲/۵ × ۲۲–۱۵ میکرومتر است. کنیدیوم‌ها روی کنیدیوفور یا مستقیماً روی هیف تشکیل می‌شوند. اپرسوریوم‌ها قهوه‌ای تا قهوه‌ای مایل به زرد، تخم‌مرغی، بیضی شکل یا گرزی کشیده هستند و حاشیه‌های صاف دارند ولی گاهی اوقات دارای لب‌های نامنظم می‌باشند. اندازه اپرسوریوم‌ها ۸/۵–۶ × ۱۶–۱۱ میکرومتر است (شکل ۱).

آزمون بیماری‌زایی استرین‌های باکتری *R. solanacearum*

۱۰ جدایه باکتری جهت انجام آزمون بیماری‌زایی انتخاب گردیدند که پس از گذشت دو هفته توانستند علائم پژمردگی را در بوته‌های جوان گوجه‌فرنگی ایجاد کنند. البته این علائم در برگ‌های جوان و قسمت بالای ساقه مشهودتر بودند. قابل ذکر است که جدایه‌ها درجات متفاوتی از پژمردگی را نشان دادند که براساس روش هنگ‌های و همکاران (Hong Hai *et al* 2008) در جدول ۳ درجه‌بندی شدند. باکتری مورد نظر مجدداً از این بوته‌ها جدا شد که ویژگی‌های آن با باکتری تزریق شده مطابقت داشت. در گلدان شاهد هیچگونه علائم پژمردگی مشاهده نگردید (شکل ۲).

آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ *C. coccodes*

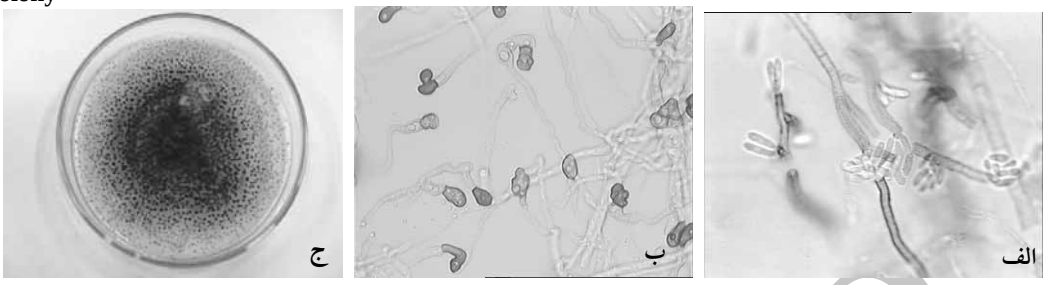
در آزمون انجام شده روی گیاه سیب‌زمینی از بین ۱۰ جدایه انتخاب شده، جدایه‌های Ama2 از شهرستان رزن و Y2 از روستای ینگیجه دارای بالاترین توان بیماری‌زایی بودند، به همین دلیل برای بررسی‌های گلخانه‌ای انتخاب شدند. شدت بیماری‌زایی براساس درصد پرگنه‌سازی ریشه

Archive of SID

www.SID.ir

شکل ۱. تصاویر ماکروسکوپی و میکروسکوپی از *Colletotrichum coccodes* (الف) کنیدیوم‌ها (ب) اپرسوریوم‌ها (ج) پرگنه قارچ داخل پتری‌دیش

Fig. 1. Macroscopic and microscopic features of *Colletotrichum coccodes* (a) conidium (b) appresorium (c) fungal colony



جدول ۳. شاخص شدت بیماری پژمردگی باکتریایی سیب‌زمینی با عامل *Ralstonia solanacearum*

Table 3. Disease severity index of bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*

Disease severity index	Percentages of wilted plants
0	No symptoms
1	<20% leaves wilted
2	20% to 60% leaves wilted
3	60% to 100% leaves wilted
4	All leaves wilted
5	Plant collapsed or dead

شکل ۲. آزمون بیماری‌زایی باکتری *R. solanacearum* روی بوته گوجه‌فرنگی (الف)بوته سالم (ب) بوته آلوده (ج) کلونی باکتری جدا شده از بوته آلوده روی محیط TTC

Fig. 2. Pathogenicity test of *R. solanacearum* on tomato plant (a) healthy plant (b) infected plant (c) bacterial colony on TTC medium

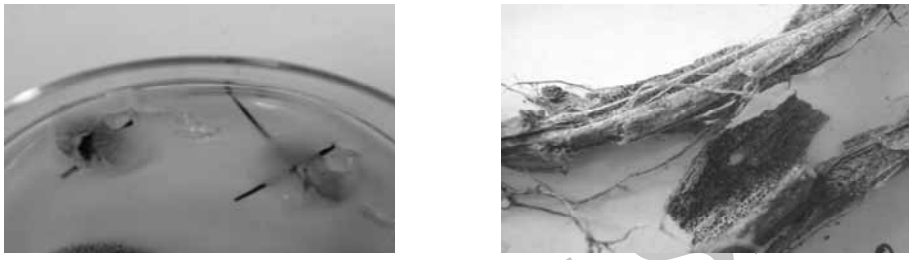
Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۴. شاخص شدت بیماری خال سیاه سیب‌زمینی با عامل *Colletotrichum coccodes*

Table 4. Disease severity index of black-dot caused by *Colletotrichum coccodes*

Disease severity index	Appearance of sclerotia on roots
0	No sclerotia
1	Few sclerotia
2	Up to 25% of roots covered with sclerotia
3	Up to 50% of roots covered with sclerotia
4	50-70% of roots covered with sclerotia
5	More than 70% of roots covered with sclerotia



شکل ۳. آزمون بیماری‌زایی قارچ *Colletotrichum coccodes* (الف) میکرواسکلروت روی ریشه سیب‌زمینی (ب) پرگنه جدا شده از ریشه آلوده

Fig. 3. Pathogenicity test of *Colletotrichum coccodes* on potato plant (a) microsclerotia on potato roots (b) fungus obtained from infected root

توسط میکرواسکلروت جدایه‌های مختلف قارچ اندازه‌گیری شد. درصد میکرواسکلروت موجود روی ریشه هر یک از گیاهان با استفاده از شاخص زیر (جدول ۴) ارزیابی و نمره‌دهی گردید (Tsror 2004). قارچ مورد نظر مجدداً از بافت‌های آلوده جداسازی گردید (شکل ۳).

نتایج بررسی اثر متقابل *C. coccodes* و *R. solanacearum*

پس از گذشت ۲ ماه از کاشت، بوته‌ها از خاک بیرون آورده شده و شاخص‌های مختلف گیاه از قبیل طول ساقه، طول ریشه، وزن تر و خشک ساقه و ریشه و درصد پرگنه‌سازی ریشه توسط میکرواسکلروت قارچ در آنها به دقت اندازه‌گیری و یادداشت شد. برای هر رقم اعداد مربوط به تیمارهای مختلف به صورت جداگانه تجزیه شد. نتایج به دست آمده در ادامه به تفصیل آمده است.

بررسی اثر متقابل *C. coccodes* و *R. solanacearum* در رقم آگریا

در رقم آگریا در روش آغشته‌سازی خاک، حضور توأم دو بیمارگر نسبت به حضور هر یک از آنها به تنهایی به میزان بیشتری باعث کاهش طول ساقه شد. در روش آغشته‌سازی غده نیز نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری در اثر وجود بیمارگرها در گیاه مشاهده گردید. در این روش بر خلاف روش آغشته سازی خاک اثر تیمارهای Cc و Rs + Cc نسبت به تیمار Rs در کاهش طول ساقه مشهودتر بوده و از لحاظ آماری بین آنها تفاوت وجود دارد. در واقع اثر قارچ به تنهایی و اثر قارچ و باکتری به همراه هم، مشابه بوده و می‌توان این‌طور نتیجه‌گیری کرد که وجود باکتری در گیاه تأثیر چندانی روی کاهش طول ساقه توسط قارچ ندارد. در تیمار توأم دو بیمارگر طول ساقه و طول ریشه نسبت به سایر تیمارها با کاهش بیشتری مواجه شد.

Archive of SID

www.SID.ir

آغشته‌سازی غده در مورد هر دو بیمارگر به میزان قابل توجهی بیشتر از آغشته‌سازی خاک در کاهش طول ریشه مؤثر بود. دو روش آغشته‌سازی تفاوت مشهودی از نظر کاهش وزن تر ساقه داشته و آغشته‌سازی غده توسط بیمارگرها بیش از آغشته‌سازی خاک روی وزن تر ساقه تأثیر منفی نشان داد. در هر دو تیمار قارچ و باکتری اینوکولوم غده‌زاد در کاهش وزن تر ساقه نقش بیشتری نشان داد.

در روش آغشته‌سازی خاک، کلیه تیمارها به طرز معنی‌داری نسبت به شاهد با کاهش وزن تر ریشه همراه بودند. در این میان تیمار Rs+Cc (باکتری *R. solanacearum* + قارچ *C. coccodes*) بیشترین میزان کاهش وزن را نسبت به شاهد نشان داد. در روش آغشته‌سازی غده حضور توأم دو بیمارگر با ۸۵/۶۴ درصد کاهش وزن نسبت به شاهد بیشترین تأثیر را در صفت مورد اندازه‌گیری داشت که از لحاظ آماری نیز کاملاً مشهود بود. در مورد وزن خشک ساقه غیر از شاهد بقیه تیمارها در یک گروه آماری قرار گرفتند و همگی از لحاظ مقدار تقریباً در یک سطح قرار داشتند. در مورد این صفت اختلاف بین دو روش آغشته‌سازی قابل ملاحظه بود. در روش آغشته‌سازی خاک تیمارهای Cc و Rs + Cc از لحاظ آماری مشابه بوده ولی با تیمار Rs تفاوت داشتند. از اینجا می‌توان فهمید که در این صفت نیز وجود باکتری نتوانسته باعث افزایش اثر قارچ روی گیاه شود. در هر دو روش آغشته‌سازی در تیمار شاهد و باکتری هیچگونه میکرواسکلروتی روی ریشه‌ها دیده نشد. در روش آغشته‌سازی غده میزان پرگنه‌سازی ریشه توسط میکرواسکلروت در تیمار مربوط به قارچ و در تیمار مربوط به دو بیمارگر بیشتر از روش آغشته‌سازی خاک می‌باشد. از این‌رو می‌توان نتیجه گرفت که اینوکولوم غده‌زاد تأثیر بیشتری در پرگنه‌سازی ریشه توسط میکرواسکلروت قارچ دارد. توسعه میکرواسکلروت قارچ در رقم آگریا روی ریشه بین ۵۰ تا ۷۰ درصد بوده و در حضور باکتری بیشتر شد اما این افزایش در حدی نبود که اختلاف معنی‌داری بین دو تیمار مشاهده شود. از لحاظ آماری می‌توان گفت که جز در دو مورد وزن تر ساقه و ریشه در روش آغشته‌سازی غده، وجود یا عدم وجود باکتری تأثیری روی پرگنه‌سازی ریشه توسط قارچ ندارد. (جدول ۵).

بررسی اثر متقابل *C. coccodes* و *R. solanacearum* در رقم بورن

در این رقم در روش آغشته‌سازی خاک، کلیه تیمارها نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند. قارچ و باکتری به یک اندازه در کاهش طول ساقه مؤثر بوده و از لحاظ آماری نیز در یک گروه قرار گرفتند. تلقیح توأم دو بیمارگر به طور معنی‌داری باعث افزایش اثر منفی قارچ و باکتری روی طول ساقه شد و آن را به حدود نصف تیمار شاهد کاهش داد. طول ریشه در تیمار شاهد در هر دو روش آغشته‌سازی بیشتر از سایر تیمارها بود. قارچ و باکتری در روش آغشته‌سازی خاک مقادیر مشابهی داشته و شاید بتوان گفت که به یک اندازه بیماری‌زا هستند که متعاقب آن اثر آنها روی پارامترهای گیاه نیز مشابه است. در روش آغشته‌سازی غده، تیمار Cc از لحاظ آماری با تیمار Rs + Cc تفاوت داشت که گویای این مسأله است که باکتری باعث افزایش اثر منفی قارچ روی طول ریشه شده است. در این رقم نیز در حضور دو بیمارگر گیاه بیشتر تحت تأثیر هر یک از آنها قرار گرفت و طول ریشه با کاهش بیشتری مواجه شد. از لحاظ کمی کاهش وزن تر ساقه توسط قارچ بیشتر از باکتری بود و حضور توأم دو

www.SID.ir

جدول ۵. میانگین اثر تیمارهای مختلف قارچ *C. coccodes* و باکتری *R. solanacearum* روی طول، وزن تر و وزن خشک ساقه و ریشه سیب‌زمینی و پرگنه‌سازی ریشه توسط میکرواسکلروت قارچ*C. coccodes* در رقم آگریا

Table 5. Means of different treatments of *C. coccodes* and *R. solanacearum* effect on Agria potato cultivar roots and stems length, wet weight, dry weight and root colonization by *C. coccodes* microsclerotia

Character								
Root colonization by microsclerotia (%)	Root dry weight (gr)	Stem dry (gr)weight	Root wet weight (gr)	Stem wet weight (gr)	Root length (cm)	Stem length (cm)	treatment	Inoculation method
								soil inoculation
0 b	2.53 a	5.45 a	16.11 a	81.07 a	39.49 a	158.17 a	Control	
0 b	1.51 b	3.07 b	10.93 b	51.88 b	31.9 b	119.39 b	Rs	
4 a	0.88 c	3.15 b	8.56 bc	40.75 b	25.83 c	109.73 b	Cc	
4.33 a	0.76 c	3.41 b	6.22 c	42.43 b	22.29 c	103.82 b	Rs + Cc	
								tuber inoculation
0 b	2.44 a	5.49 a	15.67 a	79.06 a	39.44 a	156.6 a	Control	
0 b	1.34 b	1.92 b	5.37 b	23.74 c	24.1 b	117.48 b	Rs	
4.33 a	0.81 c	2.01 b	5.85 b	33.91 b	19.87 bc	107.86 c	Cc	
4.66 a	0.58 c	2.05 b	2.25 c	21.7 c	16.06 c	104.13 c	Rs + Cc	

-Control: شاهد (بدون قارچ و باکتری)، Rs: *R. solanacearum*، Cc: *C. coccodes*، Rs + Cc: *R. solanacearum* + *C. coccodes*

-Control: without Rs and Cc, Rs: *R. solanacearum*, Cc: *C. coccodes*, Rs + Cc: *R. solanacearum* + *C. coccodes*

-اعداد جدول میانگین سه تکرار می‌باشند و اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون، در سطح احتمال ۱٪ بر اساس آزمون دانکن تفاوت آماری معنی‌داری ندارند.

-Data presented are means of three replications and means followed by different letters in the same column are significantly different (Duncan test at $p<0.01$)

عامل بیماری‌زا باعث کاهش بیشتر وزن تر ساقه نسبت به وجود دو عامل به تنهایی در گیاه شد و تفاوت آماری معنی‌داری بین این تیمار و سایر تیمارها وجود داشت. در تیمار باکتری آغشته‌سازی خاک در کاهش رشد ساقه تأثیر بیشتری داشته است و بالعکس در تیمار قارچ آغشته‌سازی غده کاهش رشد بیشتری را در رقم بورن ایجاد کرده بود. در مورد وزن تر ریشه اثر اینوکولوم خاکبرد و غده‌زاد روی آلودگی گیاه به باکتری کاملاً یکسان بود. درحالی که در تیمار قارچ در روش آغشته‌سازی خاک کاهش وزن کمتر از روش آغشته‌سازی غده بود. در روش اول کاهش وزن

Archive of SID

www.SID.ir

تر ریشه توسط باکتری نسبت به قارچ قابل ملاحظه‌تر بود. تیمار Rs+Cc به طرز معنی‌داری باعث کاهش وزن نسبت به سایر تیمارها شده بود. بین دو روش آغشته‌سازی اختلاف چندانی مشاهده نشد و کمترین عدد مربوط به تیمارRs+Cc در روش آغشته‌سازی غده بود. در بررسی اثر تیمارهای مختلف در وزن خشک ساقه مشخص شد که *C. coccodes* و *R. solanacearum* اثر یکدیگر را تشدید کرده و حضور توأم دو بیمارگر باعث کاهش بیشتر وزن خشک می‌گردد. در این صفت نیز دو روش آغشته‌سازی تفاوت چندانی با یکدیگر نشان ندادند. میزان کاهش وزن خشک ریشه نسبت به شاهد در مقایسه با سایر صفات بیشتر است و می‌توان گفت که از بین صفات مورد اندازه‌گیری بیشترین تأثیر بیمارگرها روی وزن خشک ریشه می‌باشد. حضور توأم دو بیمارگر در گیاه نسبت به حضور هر یک از آنها به تنهایی وزن خشک ریشه را بیشتر کاهش داده و این‌طور به نظر می‌رسد که باکتری در افزایش تأثیر منفی قارچ نقش پررنگ‌تری را ایفا کرده باشد. در این مورد اختلاف بین دو روش آغشته‌سازی مشخص‌تر است. در هر دو روش آغشته‌سازی در تیمار شاهد و باکتری هیچگونه میکرواسکلروتی روی ریشه‌ها دیده نشد و میزان پرگنه‌سازی ریشه توسط میکرواسکلروت قارچ *C. coccodes* در حضور *R. solanacearum* افزایش معنی‌داری پیدا کرده بود. براساس شاخص موجود میزان پرگنه‌سازی ریشه توسط میکرواسکلروت قارچ در رقم بورن به طور میانگین ۵۰ درصد گزارش شد (جدول ۶).

بررسی اثر متقابل *C. coccodes* و *R. solanacearum* در رقم دیامانت

در رقم دیامانت، در هر دو روش آغشته‌سازی طول ساقه در کلیه تیمارها در مقایسه با شاهد کاهش پیدا کرده بود اما این کاهش نسبت به سایر ارقام کمتر بود. تیمار مربوط به باکتری از لحاظ آماری با شاهد در یک گروه قرار گرفت. بین این تیمار و تیمار قارچ نیز تفاوت آماری مشاهده نشد اما از لحاظ کمی *C. coccodes* بیش از *R. solanacearum* طول ساقه را کاهش داده بود. عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین دو تیمار Cc و Rs+CC نشان‌دهنده این است که در این صفت باکتری نتوانسته اثر منفی قارچ را روی گیاه افزایش دهد. با بررسی نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای مختلف روی طول ریشه مشخص شد که هر دو بیمارگر و هم‌چنین اثر متقابل آنها باعث کاهش طول ریشه نسبت به شاهد گردیده‌اند. تیمار باکتری از لحاظ آماری مشابه شاهد بوده و کاهش زیادی را در طول ریشه سبب نشده بود. در روش آغشته‌سازی خاک باکتری نتوانسته تأثیر چندانی روی افزایش بیماری‌زایی قارچ بگذارد و تیمار Cc و Rs + Cc تفاوت آماری با هم ندارند اما ظاهراً حضور قارچ تا حدی باعث افزایش اثر باکتری شده است. در مجموع کاهش طول ریشه در گیاهان آلوده نسبت به شاهد خیلی مشهود نبود و بین دو روش آغشته‌سازی نیز تفاوتی مشاهده نگردید. در مورد وزن تر ساقه در روش آغشته‌سازی خاک کلیه تیمارها از لحاظ آماری مشابه بوده و در یک گروه قرار گرفتند اما بین آنها و شاهد اختلاف معنی‌داری وجود داشت. در آغشته‌سازی غده تیمار باکتری از لحاظ آماری هم با شاهد و هم با دو تیمار دیگر در یک گروه قرار گرفت.

در بررسی کمی اعداد جدول مشخص شد در این صفت قارچ بیماری‌زایی بیشتری از خود نشان داده است. بر خلاف بسیاری از موارد قبلی، اینوکولوم خاکبرد تأثیر بیشتری در کاهش وزن تر ساقه از خود نشان داد. در وزن تر ریشه، در روش آغشته‌سازی خاک کلیه تیمارها با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان دادند اما با وجود تفاوت در

www.SID.ir

جدول ۶. میانگین اثر تیمارهای مختلف قارچ *C. coccodes* و باکتری *R. solanacearum* روی طول، وزن تر و وزن خشک ساقه و ریشه و پرگنه‌سازی ریشه توسط میکرواسکلروت قارچ *C. coccodes* سیب‌زمینی در رقم بورن

Table 6. Means of different treatments of *C. coccodes* and *R. solanacearum* effect on Boren potato cultivar roots and stems length, wet weight, dry weight and root colonization by *C. coccodes* microsclerotia

Character								
Root colonization by microsclerotia (%)	Root dry (gr) weight	Stem dry weight (gr)	Root wet (gr) weight	Stem wet (gr) weight	Root length (cm)	Stem length (cm)	treatment	inoculation method
								soil inoculation
0 c	1.77 a	2.66 a	6.09 a	35.57 a	24.38 a	114.97 a	Control	
0 c	0.37 b	1.63 b	3.02 b	24.3 b	18.7 b	85.88 b	Rs	
2.66 b	0.61 b	1.73 b	3.99 b	21.28 b	19.8 b	86.88 b	Cc	
4 a	0.31 b	0.83 c	1.31 c	12.98 c	13.63 c	53.19 c	Rs + Cc	
								tuber inoculation
0 c	1.72 a	2.74 a	6.14 a	34.55 a	24.2 a	118.27 a	Control	
0 c	0.63 b	1.7 b	3.03 b	25.3 b	17.65 bc	81.07 b	Rs	
2 b	0.46 b	1.1 bc	3.11 b	18.32 b	19.66 b	82.27 b	Cc	
4 a	0.26 b	0.77 c	1.17 c	13.31 c	13.83 c	48.41 c	Rs + Cc	

-Control: شاهد (بدون قارچ و باکتری)، Rs: *R. solanacearum*، Cc: *C. coccodes*، Rs + Cc: *R. solanacearum* + *C. coccodes*

- Control: without Rs and Cc, Rs: *R. solanacearum*, Cc: *C. coccodes*, Rs + Cc: *R. solanacearum* + *C. coccodes*

-اعداد جدول میانگین سه تکرار می‌باشند و اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون، در سطح احتمال ۱٪ براساس آزمون دانکن تفاوت آماری معنی‌داری ندارند

-Data presented are means of three replications and means followed by different letters in the same column are significantly different (Duncan test at $p<0.01$)

مقادیر مربوط به تیمارهای آلوده، همگی از لحاظ آماری متعلق به یک گروه بودند. تأثیر قارچ در کاهش وزن تر ریشه بیش از باکتری بود. در مورد وزن خشک ساقه با آغشته‌سازی خاک، حضور باکتری باعث کاهش بیماری‌زایی قارچ نسبت به زمانی شده که قارچ به تنهایی در خاک وجود دارد. در واقع در تیمار Rs + Cc وزن خشک نسبت به تیمار Cc افزایش پیدا کرده که می‌تواند به دلیل اثر آنتاگونیستی باکتری روی قارچ و یا عوامل دیگر باشد. در آغشته‌سازی غده قارچ و باکتری تقریباً به یک اندازه در ایجاد بیماری مؤثر بوده و اثر متقابل

Archive of SID

www.SID.ir

آنها هر چند کم اما وزن خشک ساقه را کاهش داده است. *R. solanacearum* و *C. coccodes* و هم‌چنین ترکیب آنها تأثیر مشابهی در کاهش وزن خشک ریشه در رقم دیامانت داشته است. اثر هم افزایی دو بیمارگر روی هم در این مورد تقریباً ناچیز می‌باشد اما در هر صورت وزن خشک در تیمار آخر کاهش بیشتری یافته است. اختلاف دو روش چندان قابل ملاحظه نمی‌باشد اما کاهش وزن در تیمار Rs + Cc در روش دوم از همه کمتر است. در تیمار شاهد و باکتری اثر هیچ‌گونه میکرواسکلروتی مشاهده نگردید. میزان میکرواسکلروت در هر دو روش در حضور باکتری افزایش یافته بود اما نه در حدی که اختلاف آماری مشاهده شود. درصد پرگنه‌سازی ریشه در رقم دیامانت نسبت به دو رقم دیگر کمتر و حدود ۳۰٪ می‌باشد (جدول ۷).

بحث

سیب‌زمینی در طول دوره رشد خود تحت تأثیر عوامل زنده و غیرزنده‌ای قرار می‌گیرد که رشد گیاه و سالم بودن آن وابسته به آنها می‌باشد. از آنجا که عوامل بیماری‌زا باعث ایجاد خسارات مهمی در گیاهان، خصوصاً محصولات مهم اقتصادی می‌شوند، حائز اهمیت بسیاری هستند. هر بیمارگر به نوبه خود آسیب‌هایی را به گیاه وارد می‌سازد که در برخی موارد جبران‌ناپذیر می‌باشد. حضور هم‌زمان دو یا چند بیمارگر در گیاه می‌تواند خسارات بیشتری را در پی داشته باشد، در حضور یک بیمارگر قوی، ممکن است نقش بیمارگر ضعیف در ایجاد بیماری پررنگ‌تر شود. بنابراین داشتن اطلاعاتی در مورد نحوه اثر و روابط بیمارگرها، به منظور مدیریت بهتر بیماری و هم‌چنین کاهش خسارات وارده، ضروری می‌نماید. باکتری *R. Solanacearum*، عامل بیماری پژمردگی آوندی و قارچ *C. coccodes*، عامل بیماری خال سیاه، به صورت‌های مختلف در سیب‌زمینی ایجاد اختلال کرده و مانع رشد طبیعی آن می‌شوند. کاهش رشد گیاه بیمار نسبت به بوته‌های سالم از علائم مشخصه هر دو بیماری خال سیاه و پژمردگی باکتریایی سیب‌زمینی است. در رقم آگریا، وجود باکتری تأثیر چندانی در افزایش اثر قارچ روی پارامترهای گیاه نداشت. با توجه به مقادیر مربوط به تیمار باکتری و مقایسه آن با تیمار Rs+Cc می‌توان گفت که حدوداً در نیمی از موارد قارچ *C. coccodes* به طرز معنی‌داری در افزایش خسارت و خصوصاً کاهش رشد توسط باکتری *R. solanacearum* اثر مثبت دارد یعنی دارای اثر هم افزایی است. اما وجود یا عدم وجود باکتری تأثیر چندانی روی کاهش وزن و طول ساقه و ریشه و پرگنه‌سازی ریشه توسط قارچ نداشت و خسارت ناشی از آن را افزایش نداد. کم بودن مقادیر مربوط به تیمار قارچ نسبت به تیمار باکتری در اکثر موارد می‌تواند مؤید این مطلب باشد که رقم آگریا نسبت به قارچ حساسیت بیشتری دارد.

در مجموع در بین سه رقم مورد مطالعه در این آزمایش، رقم آگریا بیش از سایرین نسبت به دو بیمارگر حساسیت نشان داد. در اکثر موارد روش آلوده‌سازی غده باعث افزایش خسارت به گیاه گردیده بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تحت شرایط گلخانه‌ای (تلقیح مصنوعی و خاک استریل) در *R. solanacearum* و *C. coccodes* اینوکولوم غده‌زاد نسبت به اینوکولوم خاکبرد نقش مهم‌تری را در ایجاد بیماری ایفا می‌کند. مطالعات انجام شده در هند توسط *سیتارامایا* و سین‌ها(Sitaramaiah & Sinha, 1984) نشان داده‌اند که اثرات بیماری‌زایی *R. solanacearum* و *Meloidogyne javanica* به همراه هم بیشتراز اثرات

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۷. میانگین اثر تیمارهای مختلف قارچ *C. coccodes* و باکتری *R. solanacearum* روی طول، وزن تر و وزن خشک ساقه و ریشه و پرگنه‌سازی ریشه توسط میکرواسکلروت قارچ *C. coccodes* سیب‌زمینی در رقم دیامانت

Table 7. Means of different treatments of *C. coccodes* and *R. solanacearum* effect on Diamant potato cultivar roots and stems length, wet weight, dry weight and root colonization by *C. coccodes* microsclerotia

Character								
Root colonization by microsclerotia (%)	Root dry (gr) weight	Stem dry weight (gr)	Root wet (gr) weight	Stem wet (gr) weight	Root length (cm)	Stem length (cm)	treatment	inoculation method
								soil inoculation
0b	1.84 a	3.86 a	8.86 a	27.54 a	28.42 a	71.59 a	Control	
0b	1.14 b	2.74 ab	6.86 b	18.93 b	24.93 ab	62.49 ab	Rs	
1.66 a	1.25 b	1.62 b	5.76 b	15.9 b	22.4 bc	53.65 b	Cc	
2 a	1.02 b	1.88 b	5.19 b	14.03 b	19 c	52.67 b	Rs + Cc	
								tuber inoculation
0 b	1.92 a	3.05 a	8.27 a	27.12 a	28.55 a	73.3 a	Control	
0b	1.14 b	2.02 b	6.04 ab	21.62 ab	24.96 ab	61.54 ab	Rs	
2.33 a	1.26 b	1.9 b	5.26 b	17.36 b	22.03 ab	56.65 b	Cc	
2.66 a	0.91 b	1.75 b	4.93 b	15.26 b	19.2 b	53.9 b	Rs + Cc	

-Control: شاهد (بدون قارچ و باکتری)، Rs: *R. solanacearum*، Cc: *C. coccodes*، Rs + Cc: *R. solanacearum* + *C. coccodes*

- Control: without Rs and Cc, Rs: *R. solanacearum*, Cc: *C. coccodes*, Rs + Cc: *R. solanacearum* + *C. coccodes*

-اعداد جدول میانگین سه تکرار می‌باشند و اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون، در سطح احتمال ۱٪ براساس آزمون دانکن تفاوت آماری معنی‌داری ندارند.

-Data presented are means of three replications and means followed by different letters in the same column are significantly different (Duncan test at p<0.01)

هر یک از آنها به تنهایی است. *آزادوار* و *همکاران* (۲۰۰۱) نیز مقاومت نسبی ۱۹ رقم تجاری سیب‌زمینی در شرایط میکروپلات و گلخانه بررسی و گزارش نمودند که هیچ یک از ارقام در برابر بیماری پژمردگی باکتریایی مقاوم نیستند. ارقام سانتا، آئولا، مارفونا، کوزیما و آگریا بالاترین میزان تحمل و ارقام دیامانت و پریمر بیشترین میزان حساسیت را نسبت به سایر ارقام دارا هستند. لازم به توضیح است که در شرایط محیطی و آزمایشی مختلف ارتباط بین گیاه و بیمارگر تحت تأثیر قرار گرفته و نیز با گذشت زمان و ایجاد نژادهای جدید بیمارگر، حساسیت

Archive of SID

www.SID.ir

گیاه نیز به آن تغییر خواهد نمود. هم‌چنین وجود هم زمان دو بیمارگر در گیاه می‌تواند بر خصوصیات بیماری‌زایی و حتی حساسیت گیاه در برابر آنها مؤثر باشد. با توجه به اعداد جدول شماره ۵ مشاهده می‌شود که در رقم آگریا در بیش از نیمی از موارد، وجود قارچ باعث افزایش حساسیت گیاه نسبت به باکتری شده است (وجود تفاوت آماری). بنابراین علت حساس‌تر بودن رقم آگریا از رقم دیامانت در این آزمایش می‌تواند مربوط به حضور *C. coccodes* و تأثیر آن بر حساسیت گیاه و بیماری‌زایی *R. solanacearum* باشد.

در رقم بورن، خسارت قارچ و باکتری به تنهایی از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار نداشته ولی اثر متقابل آنها به طرز معنی‌داری باعث کاهش صفات مورد اندازه‌گیری و هم‌چنین افزایش توانایی قارچ در پرگنه‌سازی ریشه شده بود. این نتایج بدان معنی است که در رقم بورن قارچ و باکتری از لحاظ قدرت بیماری‌زایی تفاوت چندانی ندارند و یا به عبارت بهتر حساسیت گیاه نسبت به آنها تقریباً در یک سطح می‌باشد. دو بیمارگر با تشدید اثر یکدیگر باعث وارد آمدن خسارت بیشتری به گیاه می‌شوند. اینوکولوم خاکبرد باکتری تا حدی اثر تخریبی بیشتری نسبت به قارچ از خود نشان داد. به نظر می‌رسد که در تیمار قارچ اینوکولوم غده‌زاد اثر تخریبی بیشتری نسبت به اینوکولوم خاکبرد دارد. میزان کاهش صفات مورد اندازه‌گیری در رقم بورن نسبت به رقم آگریا کمتر بوده و بنابراین شاید بتوان گفت که این رقم نسبت به دو بیمارگر مقاوم‌تر است. پرگنه‌سازی کمتر ریشه توسط میکرواسکلروت قارچ نیز مؤید این مدعاست. *رحیمیان* و *میشل* (Rahimian & Mitchell 1984) نشان دادند که علائم مرگ زودرس سیب‌زمینی در حضور *V. dahliae* و *Erwinia carotovora* pv. *Carotovora* در مقایسه با هر یک از عوامل به تنهایی شدیدتر است و در واقع دو بیمارگر اثر تشدیدکنندگی روی هم دارند. هم‌چنین در حضور دو بیمارگر رشد گیاه دچار کاهش شده و علائم پژمردگی و کلروز و توسعه پوسیدگی نرم ساقه افزایش قابل ملاحظه‌ای را در پی داشتند. *سرور* و *هازانوفسکس* (Hazanovsky & Tsror 2001) اثر تلقیح هم‌زمان *C. coccodes* و *V. dahliae* را در سه غلظت مختلف و در چهار رقم سیب‌زمینی مورد بررسی قرار دادند. براساس نتایج حاصل مشخص شد که در برخی ارقام حضور *V. dahliae* باعث افزایش تعداد میکرواسکلروت‌های *C. coccodes* شده (اثر هم افزایی) و در دو رقم دیگر وجود *C. coccodes* میزان میکرواسکلروت‌های *V. dahliae* را کاهش داده است (اثر آنتاگونیستی). حضور دو بیمارگر به همراه هم در گیاه در بعضی موارد اثر معنی‌داری روی پارامترهای گیاه نداشته اما گاهی نیز باعث کاهش آنها شده است. *نیروشینی‌گاناسینگه* و *همکاران* (Niroshini Gunasinghe *et al*. 2009) برهم‌کنش بین *C. musae* و *Lasidiodiplodia theobromae* را در موزبررسی کردند، نتایج نشان داد که اولاً، *L. theobromae* از اهمیت بیشتری در موز برخوردار می‌باشد و دوماً، میزان بیماری در حضور دو بیمارگر نسبت به بیماری ایجاد شده توسط هر یک به تنهایی، کمتر است. پس می‌توان گفت که دو بیمارگر روی یکدیگر اثر آنتاگونیستی دارند

در رقم دیامانت در اکثر موارد باکتری با تیمار شاهد از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار نداشتند که نشان‌دهنده توان بیماری‌زایی کم باکتری روی این رقم و وجود مقاومت نسبی در گیاه نسبت به باکتری عامل بیماری پژمردگی می‌باشد. بیماری‌زایی قارچ و باکتری مشابه بوده اما قارچ نقش زیادتری در کاهش پارامترهای گیاه ایفا کرده که نشان‌دهنده حساسیت بیشتر گیاه نسبت به قارچ می‌باشد.

www.SID.ir

اگرچه تیمارRs + Cc با سایر تیمارها در یک گروه قرار گرفته اما در آن همواره با افت شاخص‌های مورد اندازه‌گیری مواجه بودیم. بنابراین می‌توان گفت که دو بیمارگر مورد مطالعه تا حدی اثر هم افزایی روی یکدیگر دارند. در کلیه تیمارها نقش هر دو روش آغشته‌سازی در ایجاد و توسعه بیماری در گیاه مشابه می‌باشد. درصد پائین پرگنه‌سازی ریشه توسط میکرواسکلروت قارچ این تصور را ایجاد می‌کند که این رقم نسبت به سایر ارقام به قارچ نیز مقاومت بیشتری داشته باشد. در این آزمایش مشخص شد که تأثیر اینوکولوم غده‌زاد در توسعه میکرواسکلروت روی ریشه بیش از اینوکولوم خاکبرد می‌باشد.

طبق گزارش *تقوی و باقری* (۲۰۰۰) ، در بین چند رقم سیب‌زمینی مورد بررسی، رقم گرانولا حساس‌ترین و ارقام فرسیا، دیامانت و موندیال به بیماری پژمردگی باکتریایی ناشی از باکتری *R. solanacearum* نسبتاً مقاوم هستند. در این بررسی نیز نتایج مشابهی به دست آمد. هم‌چنین مشخص شده است که در گیاه لوبیا، *F. solani* f.sp. *phaseoli* و *Pythium ultimum* روی هم اثر تشدیدکننده دارند، یعنی پوسیدگی ریشه لوبیا در حضور این دو بیمارگر شدیدتر است اما هیچ برهم‌کنشی بین *Rhizoctonia solani* و *F. solani* f.sp. *phaseoli* مشاهده نشد. *پیزارکا و اباوی* (Pieczarka & Abawi 1978) نشان دادند که با وجود این، *R. solani* به شدت پوسیدگی ریشه ناشی از *P. ultimum* را کاهش داد که نشان‌دهنده این است که بین این دو بیمارگر اثر آنتاگونیستی وجود دارد. *کوتکون و همکاران* (*Kotcon et al.* 1985) گزارش دادند که برهم‌کنش بین *V. dahliae*، *C. coccodes*، *R. solani* و *Pratylenchus penetrans* کاهش عملکرد قابل توجهی را در پی ندارد اما حضور *V. dahliae* و *P. penetrans* نقش فزاینده‌ای را در ظهور علائم دارد. *V. dahliae* مستقیماً با کاهش رشد ریشه، وزن شاخ و برگ و عملکرد غده در ارتباط است. *P. penetrans* شدت علائم ناشی از سندرم مرگ زود هنگام سیب‌زمینی را در خاک‌های آلوده به *V. dahliae* افزایش می‌دهد. نماتد باعث توقف رشد، زردی و پیری زودرس شده اما کاهش عملکرد به همراه ندارد. *C. coccodes* و *R. solani* نیز اثر مستقیمی روی علائم، رشد گیاه یا عملکرد ندارند.

واکنش ارقام مختلف نسبت به دو بیمارگر و هم‌چنین حضور توأم آنها در گیاه متفاوت بود به طوری که پارامترهای گیاه در هر یک از ارقام درجات متفاوتی از کاهش را نشان دادند. در واقع مقاومت یا حساسیت نسبت به این بیمارگرها در ارقام مختلف سیب‌زمینی متفاوت است. این پدیده می‌تواند به دلیل تفاوت‌های فیزیولوژیکی و ژنتیکی موجود بین ارقام مختلف سیب‌زمینی باشد. در بین ارقام مورد مطالعه، رقم آگریا نسبت به دو بیمارگر حساسیت بیشتری نشان داد ولی رقم دیامانت نسبت به دو بیمارگر از بقیه مقاوم‌تر بود. در مجموع و با مقایسه دو روش آغشته‌سازی مشخص شد که چه در *R. solanacearum* و چه در *C. coccodes* اینوکولوم غده‌زاد اثر تخریبی بیشتری روی گیاه دارد. براساس نتایج این بررسی، ارقام آگریا، بورن و دیامانت به ترتیب نسبت به باکتری نیمه‌حساس، نیمه‌حساس و نسبتاً مقاوم و نسبت به قارچ، حساس، نیمه‌حساس و نسبتاً مقاوم گزارش می‌گردند. با توجه به این نتایج، جهت کنترل بیماری‌ها و جلوگیری از وارد آمدن خسارت به گیاه استفاده از ارقام مقاوم و غده‌های بذری سالم و کشت در خاک عاری از آلودگی در کنترل بیماری بسیار حائز اهمیت می‌باشد. با توجه به وجود عوامل مختلف تأثیرگذار در محیط رشد گیاه و اثرات متعددی که هر یک از آنها می‌توانند بر

Archive of SID

www.SID.ir

یکدیگر و متعاقباً در گیاه داشته باشند، پیشنهاد می‌گردد در بررسی‌های بعدی تأثیر متقابل انواع عوامل بیماری‌زا، آفات، شرایط آب و هوایی، عناصر غذایی و... در گیاهان مختلف و شرایط آزمایشی متفاوت مورد بررسی قرار گیرد. این امر می‌تواند در مدیریت بهتر محصولات مختلف و در نتیجه بهبود تولید و بالا رفتن عملکرد آنها کمک شایانی نماید.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (33-31) متن انگلیسی مراجعه شود.

Archive of SID

www.SID.ir