

## ارزیابی و شناسایی ارقام سیبزمینی مقاوم به بیماری ساق سیاه (پوسیدگی نرم)

عزیز باقری<sup>۱</sup> و دوستمراد ظفری<sup>۲</sup>

### چکیده

به منظور یافتن ارقام مقاوم به بیماری مهم و اقتصادی ساق سیاه ۵۰ رقم سیبزمینی مورد آزمون مقاومت قرار گرفتند. از هر رقم پنج غده عاری از آلودگی انتخاب و پس از ضدعفونی سطحی در شرایط آزمایشگاه با غلظت  $1 \times 10^7$  کلنی باکتری *Pectobacterium carotovorum sub sp carotovorum* در میلی لیتر مایه زنی شدند. جهت فراهم شدن رطوبت نسبی مورد نیاز، غده های مایه زنی شده با پلاستیک پوشیده شدند و پس از یک هفته با استفاده از روش وینستد و کلن با آزمون رتبه دهی از صفر (بدون علائم لهیدگی و تغییر رنگ بافت غده) تا هشت (بیشترین پوسیدگی و تغییر رنگ بافت غده) رتبه بندی شدند. ارقام کندور، دیامانت، آرانکا، مورن، سانتو و کوزیما نسبت به بقیه ارقام در آزمون مقدماتی تحمل بیشتری به عامل بیماری نشان دادند. در ارزیابی گلخانه ای، ۱۹ رقم که در آزمون مقدماتی نسبتاً تحمل بودند، در قالب طرح کاملاً تصادفی (۱۹ تیمار در ۴ تکرار) کشت شدند و زمانی که گیاهچه ها به ارتفاع ۱۵-۲۰ سانتی متر رسیدند از محل پایین ترین برگ با روش تزریق ساقه با سوسپانسیون باکتری مایه زنی شدند. هفت تا ده روز پس از مایه زنی نمره صفر برای گیاهچه هایی که فاقد علائم و نمره هشت برای گیاهچه هایی که علائم زردی، پژمردگی، سیاه شدن و لهیدگی ساقه را داشتند منظور شد. تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که ارقام مورن، ریمارکا، مارفونا و سانتو نسبت به عامل بیماری متحمل و ارقام سینجا، سرناد، ایدول، کندور، رومانو، آرانکا و دیامانت حساس ارزیابی شدند.

واژه های کلیدی: ساق سیاه، سیبزمینی، مقاومت به ساق سیاه، متحمل به ساق سیاه، *Pectobacterium carotovorum*

۱. عضو هیات علمی، بخش تحقیقات آفات و بیماری های گیاهی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان ه

۲. استادیار گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا

## مقدمه

عرب و رحیمیان (۱۳۶۸) *Erwinia carotovora* sub sp. *carotovora* را از ساقه‌های آلوده دیفن باخیا گزارش کردند.

آلیفز و همکاران (۱۹۹۶) بررسی‌هایی در خصوص ترکیبات موثر در مقاومت نسبی به بیماری ساق‌سیاه سیبزمینی که به‌وسیله گونه‌های مختلف اروینیا‌های پکتولتیک مثل *P. carotovorum* و *P. chrysanthemi* ایجاد می‌شود، انجام دادند. مراحل مختلف چرخه آلودگی در ساق‌سیاه سیبزمینی که به‌وسیله گونه‌های مختلف اروینیا پکتولتیک ایجاد می‌شود به‌عنوان ترکیبات مقاومت نسبی تفسیر می‌شود. گیاهان رشد یافته از غده‌های مادری در گلخانه دو رقم سیبزمینی با آنتی بیوتیک‌های مقاوم نشانگر با استرین‌های *P. carotovorum* یا *P. chrysanthemi* مایه‌زنی شدند. نتایج کارهای آلیفز و همکاران (۱۹۹۵) نشان داد که در برنامه‌های اصلاحی تحت شرایط آزمایشگاهی یا گلخانه‌ای هر کلون سیبزمینی، هنگامی که تفاوت‌های کلون‌ها به‌صورت مستقیم برای مقاومت پایه ساقه بررسی می‌شود، تفاوت معنی‌داری وجود دارد. دانشمندان مذکور در بررسی مقاومت غده‌های بذری ۱۲ کولتیوار سیبزمینی در شرایط مزرعه به بیماری ساق‌سیاه، ارقام آگریا<sup>۱</sup>، آلك ماریا<sup>۲</sup>، آمازون<sup>۳</sup>، کندور<sup>۴</sup> و ونوسکا<sup>۵</sup> را نسبتاً حساس و ارقام آریند<sup>۶</sup>، هرثا<sup>۷</sup>، کارنیکو<sup>۸</sup> و پرودوسنت<sup>۹</sup> را نسبتاً مقاوم و ارقام بین تیج<sup>۱۰</sup>، دزیره<sup>۱۱</sup> و مورن<sup>۱۲</sup> را نسبتاً متحمل ذکر کردند. گانز و همکاران (۱۹۹۱) در ارزیابی حساسیت و مقاومت ارقام سیبزمینی رتبه‌بندی صفر تا پنج را بکار بردند.

1. Agria
2. Alcmaria
3. Amazon
4. Condor
5. Venouska
6. Arinda
7. Hertha
8. Karnico
9. Producent
10. Bintje
11. Desiree
12. Morene

یکی از عوامل بیماری ساق‌سیاه سیبزمینی *Pectobacterium carotovorum* sub. sp. *carotovorum* (*P.c.c.*) می‌باشد (لیزیان و همکاران، ۱۹۹۸) که دارای دامنهٔ میزبانی نسبتاً وسیع، شامل سبزیجات و تعداد زیادی از گیاهان زینتی و زراعی مانند ذرت، برنج و چغندر قند می‌باشد. ولی خسارت عمده این بیماری روی سیبزمینی است (گوتو و همکاران، ۱۹۹۲).

عوامل متعددی می‌توانند بر سلامت بذر تأثیر منفی بگذارند که از مهمترین آنها می‌توان به عوامل بیماری‌زا (انواع قارچ‌ها، ویروس‌ها، باکتری‌ها و میکوپلاسماها) اشاره نمود. از جمله بیماری‌های باکتریایی که به تازگی در سطح استان همدان مشاهده شده و توجه متخصصان بیماری‌شناسی گیاهی و تولیدکنندگان بذر را به خود جلب نموده است بیماری ساق‌سیاه است. این بیماری یکی از شایع‌ترین بیماری‌های سیبزمینی در اروپا می‌باشد و هر ساله خسارات سنگینی به سیستم تولید بذر در کشورهای اروپایی وارد می‌سازد (گوتو و همکاران، ۱۹۹۲). با توجه به این که منبع اولیه تأمین بذر سیبزمینی جهت چرخه تولید بذر در ایران کشورهای اروپایی می‌باشند، احتمال گسترش این بیماری در مناطق مختلف سیبزمینی کاری ایران وجود دارد. در بین بیماری‌های سیبزمینی ناشی از باکتری‌ها، پوسیدگی نرم و بیماری ساق‌سیاه نقش عمده‌ای در کاهش کمیت و کیفیت محصول دارند و در فصول مرطوب و در مزارعی که به‌صورت نشتی آبیاری می‌شوند به‌صورت مسئله جدی در می‌آیند. در مزارع تولید بذر پایه میزان آلودگی به این بیماری‌ها مطابق معیارهای کشور هلند صفر و در مزارع تولید بذر گواهی شده حداکثر تا یک درصد قابل اغماض است (گوتو و همکاران، ۱۹۹۲).

در ایران بهار و دانش (۱۳۶۵) باکتری‌های جدا شده از غده‌های سیبزمینی آلوده را *Erwinia carotovora* sub sp. *carotovora* معرفی کردند.

معمولی و سپس آب مقطر سترون شستشوی سطحی شدند. سپس از غده‌های آلوده برشی تهیه و از حاشیه قسمت‌های آلوده و سالم بافت غده قطعات ۱-۲ سانتی‌متری جدا کرده و با استفاده از یک پنس سترون قطعات مذکور را داخل لوله‌های حاوی آب مقطر سترون قرار داده و پس از گذشت ۱۵-۱۰ دقیقه سوسپانسیون حاصل روی محیط‌های NA و EMB کشت گردید (فهی و پرسلی، ۱۹۸۳؛ شاد، ۲۰۰۱).

### آزمون اثبات بیماریزایی

برای اثبات بیماریزایی از گیاهچه‌های جوان سیب‌زمینی استفاده شد. گلدان‌های کوچک پلاستیکی انتخاب و در داخل هر کدام از گلدان‌ها خاکی را که با کود پوسیده حیوانی مخلوط، و با متیل بروماید به نسبت ۱۵۰ گرم در متر مکعب در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت ضد عفونی شده بود ریخته شد و غده‌های عاری از آلودگی رقم گرانبولا داخل گلدان‌های مذکور کشت شدند. زمانی که گیاهچه‌ها به ارتفاع ۲۰-۱۵ سانتی‌متری رسیدند با استفاده از روش وینستد و کلمن (۱۹۵۲) مایه‌زنی انجام شد، بدین ترتیب که از جدایه‌های باکتری، *P.C.C.* که از غده‌های سیب‌زمینی مزارع آلوده جدا و روی محیط کشت EMB کشت شده بودند (از کشت جوان باکتری پس از ۷۲ ساعت)، سوسپانسیون حاوی  $1 \times 10^7$  کلنی باکتری در میلی‌لیتر<sup>۱</sup> باکتری‌های مذکور تهیه و در زاویه دومین برگ از قاعده ساقه گیاهچه‌های سیب‌زمینی با روش تزریق ساقه، مایه‌زنی شدند. گیاهچه‌های شاهد با آب مقطر سترون مایه‌زنی شدند. گیاهچه‌ها در دمای ۳۰-۲۰ درجه سانتی‌گراد و شرایط رطوبتی بخارزنی آب<sup>۲</sup> قرار گرفتند.

### ارزیابی مقاومت ارقام

برای ارزیابی واکنش ارقام سیب‌زمینی به باکتری *P.C.C.* تعداد ۵۰ رقم از ارقام سیب‌زمینی موجود در

آلیف و همکاران (۱۹۹۵) عوامل موثر در مقاومت ارقام سیب‌زمینی به پوسیدگی نرم به وسیله *P. carotovorum* sub sp. *atrosepticum* و *P. carotovorum* sub sp. *carotovorum* و *P. chrysanthemi* در یک سنجش ورقه‌ای سیب‌زمینی را بررسی کردند. نتایج کارهای آنها نشان داد که اندازه قطر پوسیدگی سطوح بافت به‌عنوان یک روش اندازه‌گیری برای تعیین مقاومت یا حساسیت رقم بیان می‌گردد. در مدیریت بیماری‌های گیاهی یکی از بهترین و مفیدترین راه‌های کنترل بیماری‌ها استفاده از ارقام مقاوم یا متحمل است. با توجه به اهمیت اقتصادی بیماری ساق‌سیاه به ویژه در مزارع تولید بذر سیب‌زمینی، جلوگیری از خسارت آن در مزرعه و انبار و کنترل بیماری مذکور ضروری به‌نظر می‌رسد. بنابراین چنانچه در بین ارقام سیب‌زمینی، ارقامی مقاوم و یا متحمل به بیماری مذکور وجود داشته باشد می‌توان امیدوار بود که بدون آلودگی محیط زیست خسارت بیماری را کاهش داد.

### مواد و روش‌ها

#### نمونه‌برداری و جداسازی

از مزارع سیب‌زمینی بهار، قه‌اوند و رزن که علائم بیماری ساق‌سیاه را نشان دادند، نمونه‌های مشکوک به بیماری مذکور جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌گیری‌ها از مرحله گیاهچه‌ای تا زمان برداشت محصول ادامه داشت. جهت جداسازی باکتری از اندام‌های هوایی بوته سیب‌زمینی ابتدا قسمت‌های هوایی بوته‌های آلوده سیب‌زمینی حذف و قسمت‌های پایین ساقه‌ها به قطعات مذکور توسط یک پنس سترون داخل لوله‌های حاوی آب مقطر سترون قرار گرفتند، پس از ۱۵-۱۰ دقیقه با استفاده از یک لوپ سترون از سوسپانسیون حاصل روی محیط کشت نوترینت آگار مغزی (NA) و ائوزین متیلن بلوآگار (EMB) مخطط گردید. جهت جداسازی باکتری از غده‌های آلوده سیب‌زمینی، ابتدا غده‌ها با جریان آب

1. Colony Forming Unit (CFU)

2. Misting

ساعت ضد عفونی شده بود ریخته شد و غده‌های سیبزمینی عاری از آلودگی، هر کدام داخل یک گلدان در عمق مناسب کشت شدند. گلدان‌ها در داخل سینی‌های مناسب، و برای اینکه از نظر نور، آب و مواد غذایی تمامی ارقام در شرایط یکسان باشند، در مکانی مناسب از گلخانه قرار گرفتند و آبیاری آنها از طریق آبی که با ارلن در سینی‌ها ریخته می‌شد و با استفاده از خاصیت موئینگی انجام شد. پس از اینکه گیاهچه‌ها به ارتفاع ۲۰-۱۵ سانتی‌متر رسیدند مایه‌زنی آنها با سوسپانسیون باکتری شروع شد. از هر ۵ گلدان گیاهچه‌های هر رقم، چهار گیاهچه (از هر گلدان یک گیاهچه) با سوسپانسیون  $1 \times 10^7$  کلنی باکتری در میلی‌لیتر *P.c.c* استرین شماره ۷۸ به مقدار ۲۰۰ میکرولیتر با روش تزریق ساقه در زاویه اتصال دومین برگ از قاعده ساقه به ساقه اصلی تزریق شد. به گیاهچه‌های شاهد نیز، ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر سترون در همان منطقه دومین برگ ساقه تزریق شد، تمامی گیاهچه‌های تیمار و شاهد در منطقه مناسبی در گلخانه در دمای ۳۰-۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و با استفاده از سیستم بخار زنی آب رطوبت مورد نیاز جهت فعالیت باکتری فراهم گردید، ده تا پانزده روز پس از مایه‌زنی، گیاهچه‌ها با رتبه‌بندی صفر تا ۸ نمره‌دهی شدند (نمره صفر برای گیاهچه‌هایی که فاقد علائم زردی، پژمردگی، سیاه شدن و پوسیدگی ساقه بودند و نمره ۸ برای گیاهچه‌هایی که به‌طور کامل از بین رفته بودند منظور شد). تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۱ درصد انجام شد.

ایستگاه تحقیقات کشاورزی تجرک (جدول ۱) که در کلاس بذری A و عاری از آلودگی بودند به شرح ذیل مورد آزمایش قرار گرفتند. شستشوی غده‌ها با آب معمولی و قرار دادن آنها در سینی‌های پلاستیکی و نصب برچسب، ضد عفونی محل ناف هر غده با الکل اتیلیک ۷۰ درصد، سوراخ کردن محل ضد عفونی شده هر غده به عمق یک سانتی‌متر، وارد کردن ۲۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون ( $1 \times 10^7$  کلنی باکتری در میلی‌لیتر) جدایه شماره ۷۸ باکتری *P.c.c* در سوراخ ایجاد شده به وسیله سرنگ، از هر پنج غده، چهار غده با سوسپانسیون باکتری ( $1 \times 10^7$  کلنی باکتری در میلی‌لیتر) و یک غده به‌عنوان شاهد با آب مقطر سترون مایه‌زنی شدند، کف سینی‌های پلاستیکی غده‌های مایه‌زنی شده کاغذ حوله‌ای خیس قرار داده شد و روی سینی‌های پلاستیکی نیز یک لایه پلاستیک جهت حفظ رطوبت محیط اطراف غده‌های مایه‌زنی شده قرار گرفت و غده‌های مایه‌زنی شده در شرایط دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۵ درصد قرار گرفتند، یک هفته پس از مایه‌زنی غده‌ها با استفاده از مقیاس هشت رتبه‌ای (نمره صفر بدون پوسیدگی) تا نمره هشت (آلودگی شدید) نمره‌دهی شدند (نمره صفر برای گیاهچه‌هایی که فاقد علائم زردی، پژمردگی، سیاه شدن و پوسیدگی ساقه بودند و نمره ۸ برای گیاهچه‌هایی که به‌طور کامل از بین رفته بودند، منظور شد (دوروزکین و جنرالو، ۱۹۸۱؛ هاینز و همکاران، ۱۹۹۷) و تجزیه واریانس در قالب طرح کاملاً تصادفی (جداول ۱ و ۲) صورت گرفت.

مرحله دوم ارزیابی مقاومت ارقام در گلخانه انجام گرفت. از ۱۹ رقم سیبزمینی که در مرحله اول ارزیابی مقاومت در آزمایشگاه نسبت به بقیه ارقام متحمل‌تر بودند انتخاب و از هر رقم ۵ غده تقریباً هم اندازه (۶۵-۳۵ میلی‌متری) در نظر گرفته شد. برای هر رقم ۵ گلدان کوچک پلاستیکی با قطر ۱۵ سانتی‌متر انتخاب و در داخل گلدان‌ها خاکی که با کود پوسیده دامی مخلوط، و با متیل بروماید به نسبت ۱۵۰ گرم در مترمکعب و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت دو

نتایج

می‌دهد. از نورده رقم مذکور که در قالب طرح کاملاً تصادفی در داخل گلدان‌های کوچک با قطر ۱۵ سانتی‌متر در چهار تکرار کشت شدند رقم دیتا از بین رفت و ۱۸ رقم که در مرحله ۲۰-۱۵ سانتی‌متری با روش تزریق ساقه با سوسپانسیون باکتری *P.C.C* با غلظت  $1 \times 10^7$  کلنی باکتری در میلی‌لیتر مایه‌زنی شدند هفت تا ده روز پس از مایه‌زنی گیاهچه‌ها با مقیاس صفر تا هشت رتبه‌بندی شدند. تجزیه واریانس ارقام در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد (جدول ۳). در بررسی آزمایشگاهی، ارقام کندور، دیامانت، آرانکا، مورن، سانته و کوزیما نسبت به بقیه ارقام تحمل بیشتری به عامل بیماری نشان دادند ولی در بررسی‌های گلخانه‌ای ارقام مورن، ریمارکا، مارفونا، سانته، تحمل و ارقام کوزیما، آئولا، استت، آجیبا، ایلونا، فاموزا و آریزا نسبتاً حساس و ارقام سینجا، سرناد، ایدول، کندور، رومانو، آرانکا و دیامانت حساس بودند. در بررسی‌های سه ساله واکنش ارقام به *P.C.C* رقم مورن نسبت به بقیه ارقام آزمون شده تحمل بیشتر و رقم کندور حساسیت بیشتر نشان دادند.

در مایه‌زنی آزمایشگاهی ۵۰ رقم سیب‌زمینی (جدول ۱)، ۱۹ رقم نسبت به بقیه ارقام به *P.C.C* دارای حساسیت کمتر تا متحمل بودند. ارقام مورد بررسی تفاوت معنی‌داری نسبت به اینوکولوم مایه‌زنی شده باکتری از خود نشان داده‌اند (جدول ۲). نوزده رقم از ۵۰ رقم مورد آزمون که نسبت به سایر ارقام تحمل بیشتری از خود نشان دادند جهت آزمایشات بعدی انتخاب شدند. ارقام عبارتند از سینجا، سرناد، ایدول، کندور، رومانو، مورن، ریمارکا، کوزیما، آئولا، آرانکا، مارفونا، آجیبا، استت، سانته، دیامانت، ایلونا، فاموزا، آریزا و دیتا. جدول شماره (۲) نشان دهنده رتبه‌بندی ارقام در مقیاس ۸ نمره‌ای و ۱۹ رقم متحمل انتخابی است که از نظر درصد پوسیدگی حداکثر رتبه ۲/۵ را بخود اختصاص داده‌اند. هفت تا ده روز پس از مایه‌زنی علائم بیماری در گیاهچه‌های مایه‌زنی شده با سوسپانسیون باکتری ظاهر شد. جدول شماره (۳) تجزیه واریانس واکنش ارقام سیب‌زمینی به سوسپانسیون باکتری *P.C.C* را نشان

جدول ۱: ارقام سیب‌زمینی مورد استفاده در آزمون مقاومت به بیماری ساق‌سیاه

شماره	نام رقم	شماره	نام رقم						
۱	آریزا	۱۱	بولستا	۲۱	دیتا	۳۱	آژاکس	۴۱	MN101
۲	آریندا	۱۲	کاسموس	۲۲	پرونتو	۳۲	موندیال	۴۲	رومینا
۳	دراگا	۱۳	گرانولا	۲۳	اگریا	۳۳	دزیره	۴۳	کوزیما
۴	الس	۱۴	پیکاسو	۲۴	کوراس	۳۴	جیگانت	۴۴	مارفونا
۵	EBA	۱۵	ایلونا	۲۵	سرناد	۳۵	سیمرجا	۴۵	کندور
۶	اکسیرا	۱۶	رومانو	۲۶	استت	۳۶	کاردینال	۴۶	ایمپالا
۷	باراکا	۱۷	سانته	۲۷	مورن	۳۷	کنکورد	۴۷	میرام
۸	فاموزا	۱۸	YP88	۲۸	بینلا	۳۸	آسونیا	۴۸	ارانکا
۹	ایدول	۱۹	دیامانت	۲۹	اسیما	۳۹	آجیبا	۴۹	ریمارکا
۱۰	سینجا	۲۰	آئولا	۳۰	پریمیر	۴۰	هرتا	۵۰	سامانتا

جدول ۲: مقایسه میانگین واکنش ارقام سیبزمینی به *P.c.c* در آزمون مقدماتی با استفاده از روش دانکن در سطح ۱ درصد\*

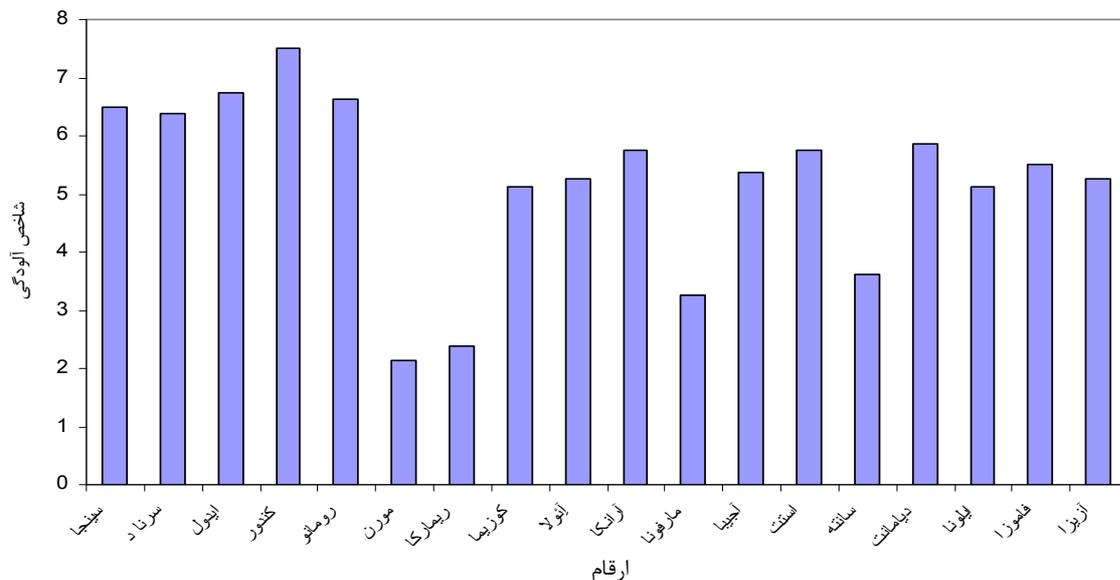
شماره	گروه بندی						
رقم	آماري	رقم	آماري	رقم	آماري	رقم	آماري
۱۳	A	۳۰	BCDEF	۱۸	CDEFGH	۵+	EFGH
۷	B	۱۲	BCDEF	۳۶	CDEFGH	۱۷+	EFGH
۱۱	BC	۴۱	BCDEF	۳۲	CDEFGH	۲۵+	EFGH
۶	BCD	۴	BCDEF	۵۰	CDEFGH	۴۳+	EFGH
۲۳	BCDE	۲۱	BCDEF	۴۷	CDEFGH	۳۹+	EFGH
۲۸	BCDE	۴۶	BCDEF	۴۹+	CDEFGH	۱۶+	EFGH
۲۹	BCDE	۱۴	BCDEFG	۲۰+	CDEFGH	۱۹+	EFGH
۲۴	BCDEF	۳۷	BCDEFG	۱۵+	CDEFGH	۱+	EFGH
۱۰	BCDEF	۳۸	BCDEFG	۳۵+	CDEFGH	۲۷+	FGH
۳۱	BCDEF	۳	BCDEFG	۹+	EFGH	۴۸+	FGH
۲	BCDEF	۴۲	BCDEFG	۸+	EFGH	۴۴+	GH
۴۰	BCDEF	۲۲	BCDEFG	۴۵+	EFGH	۲۶+	H
۳۳	BCDEF	۳۴	CDEFGH				

\*: ارقامی که دارای حروف مشابه می باشند از نظر آماری تفاوت معنی داری در سطح یک درصد نداشتند.

جدول ۳: تجزیه واریانس پاسخ ارقام (غده‌ها) به سوسپانسیون باکتری *Pectobacterium carotovurum* sub. sp.

منابع تغییرات	درجات آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F
تیمار	۴۹	۲۲۷/۹۱۱	۴/۶۵۱	۲/۹۲۹*
خطا	۱۵۰	۲۳۸/۱۸۸	۱/۵۸۸	
کل	۱۹۹	۴۶۶/۰۹۹		

\*: معنی دار در سطح ۱ درصد



شکل ۱: واکنش ارقام مختلف سیبزمینی به *Pectobacterium carotovorum* در آزمون گلخانه‌ایی

## بحث

خصوصیات مطلوب زراعی و مقاومت خوبی در شرایط محیطی مختلف به عوامل بیماری ساق سیاه داشته باشند معرفی نشده است. ارقام محدودی نیز که مقاوم به عوامل مذکور گزارش شده به عوامل دیگر حساسیت نشان داده‌اند. تنوع زیاد این باکتری، سازگاری آن با شرایط آب و هوایی مختلف و داشتن میزبان‌های زیاد، ایجاد مقاومت در محصولات اقتصادی به باکتری مزبور را مشکل ساخته است (گوتو، ۱۹۹۲).

از ارقام سیبزمینی که مورد ارزیابی آزمایشگاهی قرار گرفتند، ارقام کندور، دیامانت، آرانکا، مورن سانته و کوزیما نسبت به بقیه ارقام با درجات متفاوت متحمل بوده و ارقام گرانولا، باراکا، بولستا، کاسموس، اکسیرا، سیندا، MN101، رومینا، ایمپالا، سامانتا، آگریا، کوراس، هرتا، موندیال، کاردینال، YPS88، جیگانت، پرونتو، دراگا، آسونیا، کنکورد، پیکاسو، الس، پریمیر، دزیره و آریندا به عوامل بیماری حساسیت نشان دادند. لاپوود و گانز (۱۹۸۴)

نشانه‌های بیماری ساق سیاه در مناطق مختلف سیبزمینی کاری استان همدان در سطح محدود در سال‌های ۱۳۷۷، ۱۳۷۸ و ۱۳۷۹ مشاهده گردید. بهار و دانش (۱۳۶۵)، احمدوند و رحیمیان (۱۳۷۹) از سیبزمینی و عرب و رحیمیان (۱۳۶۸) از دیفن باخیا *P.C.C* را جدا کردند. خسارت بیماری مذکور در مزارع مختلف و در شرایط آب و هوایی متفاوت متغیر بود. از بین عوامل بیماری ساق سیاه جدا شده از سیبزمینی باکتری *P.C.C* بیشترین جمعیت را داشت و به همین دلیل مایه‌زنی ارقام سیبزمینی با باکتری مذکور انجام شد.

با توجه به اینکه مدت پایداری باکتری مذکور در خاک‌های آلوده بسته به شرایط رطوبتی و حرارتی شش ماه تا دو سال می باشد (ورایز و ورد، ۱۹۹۳) و نیز داشتن میزبان‌های متعدد استفاده از ارقام مقاوم جهت کنترل بیماری مذکور یا کاهش خسارات ضروری می‌باشد. تاکنون ارقام سیبزمینی که دارای

تزریق ساقه و دمای گرم و رطوبت نسبی بالا باعث افزایش حساسیت تیمارها به بیماری شدند. مطمئن‌ترین روش مایه‌زنی گیاهچه‌های سیب‌زمینی جهت ارزیابی مقاومت یا حساسیت ارقام روش زخمی کردن ساقه می‌باشد، ارقامی که نسبت به روش‌های دیگر مایه‌زنی نظیر غوطه‌ور سازی غده‌ها در سوسپانسیون باکتری، مخلوط کردن مایه‌عفونی (اینوکولوم باکتری) با خاک گلدان‌ها، سوراخ کردن انتهای غده‌ها و تماس دادن آنها با مایه عفونی باکتری تحمل نشان دادند ولی در مایه‌زنی به روش تزریق ساقه به عامل بیماری حساس بودند. ارقامی که با مایه‌زنی به روش تزریق ساقه مقاومت کمی نشان دهند به احتمال زیاد در طبیعت مقاومت بیشتری به بیماری نشان می‌دهند.

### سپاسگزاری

از همکاری صمیمانه آقایان مهندس حبیب‌اله مظاهری، مهندس هرمز سلطانی و مهندس امیر ارجمندیان در فراهم کردن لوازم و مواد آزمایشگاهی این تحقیق صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمائیم. از کلیه همکاران محترم بخش تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی مرکز تحقیقات کشاورزی همدان به خاطر ارائه خدمات صادقانه و از خانم فروزان فامیل فیضی که تایپ این مقاله را تقبل نموده‌اند کمال تشکر و سپاسگزاری را داریم.

مایه‌زنی محل اتصال استولون به غده‌های سیب‌زمینی را قبل از کاشت با سوسپانسیون باکتری روشی موثر برای بررسی حساسیت ارقام به بیماری ساق‌سیاه می‌دانند.

در ارزیابی گلخانه‌ایی واکنش ارقام مختلف سیب‌زمینی که در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد، از نوزده رقمی که در ارزیابی آزمایشگاهی حساسیت کمتری نسبت به عامل بیماری نشان داده بودند، در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه با دمای ۳۰-۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۰-۸۰ درصد (با سیستم بخار زنی آب) کشت شدند و با روش تزریق ساقه مایه‌زنی شدند در ارزیابی نهایی واکنش ارقام به عامل بیماری مذکور، ارقام مورن، سانته، ریمارکا، مارفونا متحمل و ارقام کوزیما، آئولا، استت، آجیبا، ایلونا، فاموزا و آریزا نسبتاً حساس (یا نیمه حساس) و ارقام سیمرجا، سرناد، ایدول، کندور، رومانو، آرانکا، دیامانت کاملاً حساس بودند از تمامی ارقام آزمون شده، رقم مورن، ریمارکا و مارفونا نسبت به بقیه ارقام متحمل‌تر و رقم کندور حساس‌ترین رقم شناخته شد. وبر (۱۹۸۴)، زیمنخ و همکاران (۱۹۹۶) زمان، برخی عوامل محیطی و منطقه مایه زنی غده‌های سیب‌زمینی را در آلودگی بوته‌های سیب‌زمینی به بیماری ساق‌سیاه، موثر می‌دانند. در بیان مقاومت یا حساسیت ارقام عوامل محیطی، به‌ویژه دما و رطوبت موثراند، به‌طوری که مایه‌زنی به روش

## منابع

- احمدوند، ر. و رحیمیان، ح. ۱۳۷۹. بررسی تنوع فنوتیپی و الکتروفورزی اروینیا‌های پکتولیتیک بیماری‌زا در سیب‌زمینی و ذرت مناطق همدان و مازندران. پایان‌نامه کارشناسی ارشد در رشته بیماری‌شناسی گیاهی دانشگاه تربیت مدرس، ۱۲۳ صفحه.
- بهار، م. و دانش، د. ۱۳۶۵. بررسی بیماری ساق‌سیاه سیب‌زمینی در اصفهان، خلاصه مقالات هشتمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، ص ۱۰۳.
- عرب، ع. م. و رحیمیان، ح. ۱۳۶۸. پوسیدگی ساقه دیفن‌باخیا در شمال ایران. خلاصه مقالات نهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، ص ۱۵۱.
- Allefs, J. J. H. M., Dooijeweert, W., Prummel, W., Keizer, L. C. P. and Hoogendoorn, J. 1996. Components of partial resistance to Potato blackleg caused by pectolytic *Erwinia carotovora* sub sp. *atroseptica* and *E. chrysanthemi* Plant Pathology, 45(3): 486-496.
- Allefs, J. J. H. M., Dooijeweert, W., Jong, E. R., Prummel, W. and Hoogendoorn, J. 1995. Factors affecting potato soft rot resistance to pectolytic *Erwinia* species in a tuber slice assay. Journal of phyto pathology, 143(11-12): 705-711.
- Beukema, H. P. and Vanderzaag, D. E. 1990. Introduction to potato Production. 179 pp.
- De-vries, P. M. and Vn-vuurde, J. W. L. 1993. Survival of *Erwinia carotovra* sub sp. *atroseptica* on seed potato. Gewasbescherming, 24: 103-108.
- Dorozhkin, N. A., Generalova, L. V. 1981. An effective method of evaluation resistance of potato to black leg. Seleksiya, I. Semenovodst, 2: 9-10.
- Fahy, P. C. and persley, G. J. 1983. Plant Bacterial Diseases: A Diagnostic Guide. Academic press Sidney Australia, 378 pp.
- Gans, P. T., Jellis, G. J., Little, G., Logan, C. and Wastie, R. L. 1991. A comparison of methods to evaluate the susceptibility of potato cultivars to black leg (caused by *Erwinia carotovora* sub.sp. *atroseptica*) in the field at different sites. Plant pathology, 40: 238-248.
- Goto, M. 1992. Fundamentals of Bacterial Plant Pathology. Academic Press Inc. Shizu oka Japan, 342 pp.
- Haynes, K. G., potts, W. J. E. and Goth, R. W. 1997. Evaluation of the reliability of determining soft rot resistance in Potatoes by the tuber slice method. American Potato Journal, 74: 265- 275.
- Lapwood, D. H. and Gans, P. T. 1984. A method for assessing the field susceptibility of Potato cultivars to black leg (*Erwinia carotovora* sub sp. *atroseptica*). Ann. appl. Biol., 104: 315-320.
- Lysiane, H., Edward Moore, R. B., Vauterin, L., Steenackers, M., Mergaert, J., Verdonck, L. and swings, J. 1998. Phylogenetic position of phytopathogens with in the Enterobacteriaceae. Systematic and Applied Microbiology, 21: 384-397.
- Schaad, N. W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathology Bacteria 3rd ed. Amer. Phytopathol. Soc. St. Paul. USA, 373 pp.
- Smith, C. and Bartz, G. A. 1990. Variation in the Pathogenicity and Aggressiveness of strains of *Erwinia carotovora* sub sp. *carotovora* isolated from different hosts. Plant Dis., 74: 505-509.
- Weber, Z. 1984. Position and date of seed tuber inoculation by *Erwini carotovora* sub sp. *atroseptica* and appearance of potato black leg. Potato Research, 27: 441-443.
- Winstead, N. N. and kelman, A. 1952. Inoculation techniques for evaluating resistance to *pseudomonas solanacearum*. Phytopathology, 42: 628-634.

Zimnoch-Guzowska, E., Michalak, A. and Wlodaeczyk, Z. 1996. Effect of some test conditions on resistance assesment of potato tubers to bacterial soft rot. *Phytopathologia polonica*, 11: 7-13.

### Evaluation and identification of potato varieties resistance to black leg (soft rot) disease

Bagheri<sup>1</sup>, A. and Zafari<sup>2</sup>, D.

#### Absteract

In order to evaluate resistance of potato cultivars to black leg, five tubers of each certificated cultivar were inoculated by 200 microlitres of  $1 \times 10^7$  cfu suspensions of *pectobacterium (Erwinia) carotovorum* sub sp. *carotovorum* (*P.c.c.*) and covered with plastic to maintain the moisture. Seven days after inoculation, the length of black leg lesions (soft rot, discoloration, black rot) are measured on tuber by a 0-5 scale (0=non symptoms, 5= maximum rot, discoloration, black rot of tubers). In laboratory experiments, 19 out of 50 tested cultivares were found tolerant potato cultivars were screened for resistance to black leg. Potato cultivars including Condor, Diamant, Aranka, Moren, Sante and Cosima were more tolerant to disease. Granulla, Barraka, Bollesta, Casmus, Exira, Sinda, MN101, Romina, Empalla, Mirpam, Samanta, Herta, Asonia, Concord, Gigant, Desiree, Stete and Aziza cultivars were fairly susceptible. In green house tests in completely Randomized design 19 cultivars were planted. Seedlings were inoculated using stem puncture with bacterial suspension when their growth reached to 10-15 centimeter. Inoculation were made with pure cultures of *P.c.c.* by (200 microlitres per plant) bacterial  $10^7$  cfu suspension placed in the axil of the first expanded leaf below the stem apex. After inoculation, plants were kept in a mist system to create high relative humidity. Seven to ten days after inoculation, plants were assessed with a scale 0-8 (0= non symptoms, 8= maximum symptoms). Analysis of susceptibility of potato cultivars to *P.c.c.* under green house conditions showed that cultivares Moren, Rimarka, Marfona, and Sante were relatively tolerate to black leg. But Sinja, Serenad, Idol, condor, Romano, Aranka and Diamant were susceptible. Moren was the most tolerant cultivar and Condor was the most susceptible cultivar to the pathogen.

**Keywords:** Black leg, *Pectobacterium carotovorum*, Potato, Tolerance, Resistance to black leg

---

1. Member of the Scientific bord, Department of Pest and Disease, Agriculture and Natural Resource Research Center, Hamadan  
2. Assistant Professor, Depatment of Plant Pathology, Faculty of Agricultural, Bu-Ali Sina University