

مقاله کوتاه

استفاده از روش قلمه‌گیری برای برداشتن بیماری های باکتریایی ساق سیاه

و پژمردگی باکتریایی در سیب‌زمینی^۱

USING STEM CUTTING METHOD TO CONTROL BLACK LEG AND BACTERIAL WILT DISEASES IN POTATO

خسرو پرویزی و عزیز باقری^۲

چکیده

در این پژوهش در سال های ۱۳۷۹ و ۱۳۸۰ اثرهای به کارگیری قلمه انتهای ساقه سیب‌زمینی در برداشتن عوامل بیماریزای بیماری های ساق سیاه و پژمردگی باکتریایی مورد بررسی قرار گرفت. درصد ریشه‌زایی، میزان تولید ریز ژوخه (ریزغده) و نیز درصد موفقیت در کاهش و یا برداشتن عوامل بیماریزای باکتریایی مورد ارزیابی قرار گرفت. ابتدا ژوخه‌هایی از چهار رقم 'مارفونا'، 'آگریا'، 'دراگا' و 'کنکورد' گزیده شده و پس از این که آزمون سلامت آن ها تأیید شد با تعلیق باکتری های عوامل بیماری های یاد شده مایه زنی شده و کشت گردیدند. آزمایش به صورت فاکتوریل با طرح پایه به طور کامل تصادفی انجام شد. شاخص های مورد بررسی شامل رقم در چهار سطح و عامل بیماریزای باکتریایی در سه سطح (دوسطح بیماریزایی باکتری ها و تیمار شاهد) بود. پس از این که ارتفاع گیاهان به ۳۰ تا ۴۰ سانتی‌متر رسید قلمه‌های انتهای تهیه شده و در محیط کشت پرلایت، درصد ریشه‌زایی آن ها اندازه‌گیری شد. پس از پایان دوران رشد و نمو قلمه‌ها، ریزژوخه های به دست آمده شمارش گردید. در مراحل مختلف از رشد قلمه‌ها و نیز از ریز ژوخه های به دست آمده نمونه‌گیری شد براساس آزمون های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی استاندارد باکتری شناسی، میزان آلودگی باکتریایی هر رقم تعیین شد. نتایج نشان داد که تفاوت در میانگین درصد ریشه‌زایی قلمه‌ها در تیمارهای مورد بررسی معنی‌دار و از نظر تعداد ریزژوخه‌های به دست آمده تنها در رقم‌های مورد آزمایش تفاوت معنی‌دار مشاهده شد. نتایج آزمایش های باکتریولوژیکی نشان داد که با نمونه‌گیری های انجام شد از قسمت های مختلف ساقه و ریزژوخه‌ها و انجام آزمون های مربوطه در هیچ یک از ریزژوخه‌های به دست آمده آلودگی به باکتری های مورد نظر مشاهده نگردید. به بیانی دیگر، استفاده از قلمه‌های سرشاخه برای برداشتن دو بیماری مورد بررسی مؤثر بود.

واژه‌های کلیدی: پژمردگی باکتریایی، ریزژوخه، ریشه‌دهی، ساق سیاه، قلمه‌گیری.

مقدمه

در کشورهای در حال پیشرفت، ژوخه بذری سیب‌زمینی بیشترین هزینه تولید در کشت سیب‌زمینی را در بر دارد و بذری با کیفیت مرغوب به طور معمول در دسترس نمی باشد. در این نواحی، بیشتر ژوخه‌هایی که برای افزایش استفاده می شوند آلوده به بیماری های ژوخه‌زاد می باشند (۵،۲).

بیماری پژمردگی باکتریایی^۱ یکی از مهمترین بیماری های سیب زمینی می باشد که با *Ralstonia solanacearum* ایجاد شده و با بستن آوندها باعث سبز خشکی گیاه می گردد. مهم ترین روش انتقال این بیماری وجود ژوخه های آلوده است. خسارت آن به گونه ای است که گاهی تا صد درصد محصول سیب زمینی را در مزرعه از بین می برد (۷، ۱۴). این بیماری به ویژه در مزارع تولید بذری سیب زمینی دارای اهمیت زیادی است و از نظر گروه بندی بذری سیب زمینی نقش مهمی را ایفا می کند. به تقریب در تمام نواحی سیب‌زمینی‌کاری ایران این باکتری از سیب‌زمینی و همچنین از گوجه فرنگی در استان فارس جدا شده است (۱، ۲، ۳، ۴). بیماری ساق سیاه یکی دیگر از بیماری های مهم و آسیب رسان سیب‌زمینی می باشد که باعث پوسیدگی سیاه در طوقه و ساقه سیب زمینی شده و در ژوخه ها لهیدگی ایجاد می نماید. این بیماری با عوامل باکتریایی زیر در مزرعه و انبار ایجاد می شود (۸، ۱۵):

1. *Pectobacterium (Erwinia) carotovorum* subsp. *carotovorum*
2. *Pectobacterium (Erwinia) carotovorum* subsp. *atrosepticum*
3. *Pectobacterium (Erwinia) chrysanthemi*

به دلیل بذرزاد و خاکزاد بودن بیماری، مایه ابتدایی باکتری عامل بیماری را می توان در روی یا درون ژوخه های بذری سیب‌زمینی و خاک یافت. چنانچه ژوخه آلوده کشت گردد، آلودگی در ژوخه‌ها پیشرفت کرده و مایه^۲ باکتری وارد خاک شده و با آب آبیاری و وسایل و عوامل دیگر در مزرعه منتشر می شود و ژوخه های جدید و سالم را نیز آلوده می سازد. این بیماری در قبل از مزارع سیب زمینی اصفهان گزارش شده است (۳). پژوهشگران برای مدت ها عقیده داشتند که نشانه های مهم و اصلی ساق سیاه تنها با *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* ایجاد می شود و به همین دلیل بروز نشانه های ساق سیاه را به عنوان تفاوت *E. c. a.* و *E. c. c.* بیان کردند (۹، ۱۷). ولی بررسی های سال های اخیر نشان داده است که نشانه های ایجاد شده از *E. c. a.* و *E. c. c.* و *E. chr.* در شرایط مناسب مزرعه قابل جداسازی نیست (۱۵). مرجرت و همکاران^۳ (۱۹) نشان دادند که در دماهای پایین خاک ۷ تا ۱۸ درجه سانتیگراد تنها باکتری *E. c. c.* و در دماهای بالای خاک ۲۴ تا ۳۵ درجه سانتیگراد تنها باکتری *E. c. a.* و در دماهای متوسط خاک ۱۵/۵ تا ۲۶/۵ درجه سانتیگراد *E. c. a.* و *E. c. c.* هر دو در بروز بیماری نقش دارند. این پژوهشگران نتیجه گرفتند که *E. c. a.* و *E. c. c.* هر دو اجزاء تشکیل دهنده بیماری ساق سیاه و پوسیدگی نرم سیب زمینی به صورت آمیخته هستند و شرایط محیطی به ویژه خاک تعیین کننده نقش هر یک از عوامل یاد شده در بروز نشانه های ساق سیاه می باشد (۱۹). دیکی^۴ در سال ۱۹۷۹ گزارش نمود که گونه *E. chr.* و دو زیرگونه *E. c. a.* و *E. c. c.* دارای انتشار جهانی هستند و با توجه به دامنه میزبانی، ویژه شده میزبان، دما و ویژگی های سرولوژیکی می توان توزیع جغرافیایی آن ها را به خوبی تعیین کرد (۱۲).

در حال حاضر روش هایی که برای تولید ژوخه های عاری از آلودگی به کار گرفته می‌شوند در درجه اول کشت بافت و ریزافزایی می‌باشد و در درجه بندی های بعدی روش های قلمه‌گیری (قلمه ساقه^۱، قلمه تک گره^۲، قلمه جوانه نوری^۳ و قلمه جوانه برگی^۴) و نیز استفاده از بذر حقیقی سیب‌زمینی^۵ قرار دارند که هر کدام محاسن و معایب ویژه خود را دارند (۵، ۶). در روش ریزافزایی عوامل آلودگی به ویژه ویروس ها نیز برداشته می‌شوند ولی برای تولید ژوخه‌های عاری از عوامل بیماریزای باکتریایی و قارچی روش قلمه ساقه مناسب‌تر بوده و با توجه به پائین بودن هزینه‌های جاری آن از بازده بالاتری نیز برخوردار می‌باشد. این شیوه در سطح وسیعی در چندین کشور از جمله اسکاتلند برای کاهش خسارت های ناشی از بیماری ساق سیاه و در نروژ برای جلوگیری از انتشار بیماری پوسیدگی حلقوی^۶ سیب‌زمینی به کار گرفته شده است (۱۳، ۲۲، ۲۵). فرو^۷ در آمریکا (۱۹۹۰) با انجام پژوهشی، با بهره‌گیری از قلمه ساقه انتهایی دست به برداشتن عامل بیماری پوسیدگی حلقوی نمودند و نشان داد که قلمه‌های ساقه سیب‌زمینی از توانایی بالایی برای برداشتن عامل بیماریزای فوق برخوردار می‌باشند (۱۳). همچنین در پژوهش دیگری تولید غده بذری سالم و عاری از باکتری *Erwinia carotovora* از ژوخه های مادری آلوده به این باکتری رضایت‌بخش بوده است (۲۳). نتایج پژوهش هایی چند، نشان دهنده این است که باکتری عامل بیماری ساق سیاه در قسمت های پائین ساقه سیب‌زمینی بیشتر از قسمت های بالای ساقه فعالیت دارد (۱۹، ۲۱، ۲۴).

در پژوهشی که در آمریکا روی میزان ریشه‌زایی قلمه‌های رقم های 'Kennebec'، 'Netted' و 'Norland' صورت گرفت، دیده شد که قلمه‌های هر سه رقم به خوبی در محیط ریشه‌زایی ماسه بدون استفاده از تنظیم کننده های رشد ریشه‌زا تولید ریشه کردند و تفاوت معنی‌داری از نظر درصد ریشه‌زایی در ۳ رقم دیده نشد (۱۱). در پژوهشی دیگر ریشه‌زایی قلمه های ساقه سیب‌زمینی در ۴ رقم در دو سیستم مه‌افشانی نوبتی و بدون سیستم مه‌افشانی بررسی شد. نتایج پژوهش نشان داد که اثرهای به کارگیری سیستم مه‌افشانی در افزایش درصد ریشه‌زایی به طور کامل معنی‌دار بوده و استفاده از ماده ضد تعرق استیل سالیسیلیک اسید^۸ اثر معنی‌داری در افزایش درصد ریشه‌زایی قلمه‌ها در ۴ رقم نداشته است (۱۶). در دو آزمایش جداگانه در سال های ۱۳۷۶ و ۱۳۷۷ درصد ریشه‌زایی قلمه‌های ساقه، جوانه و تک گره در محیط کشت ماسه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج پژوهش مشخص نمود که توانایی بالایی از ریشه‌زایی در قلمه‌های ساقه، جوانه و حتی تک گره در سیب‌زمینی وجود دارد. در قلمه‌های ساقه ۹۷/۸٪ ریشه‌زایی به دست آمد. درصد ریشه‌زایی قلمه‌های تک گره ۷۸/۹٪ بود که در رده سوم اهمیت قرار گرفتند (۵).

با توجه به خسارت بیماری های باکتریایی سیب‌زمینی در سطح کشور و اهمیت این بیماری ها در مزارع تولید بذر سیب‌زمینی کارآیی روش قلمه گیری در تولید ژوخه های عاری از برخی آلودگی های باکتریایی در ارقام سیب زمینی و تعیین درصد ریشه زایی آن ها اهمیت زیادی دارد.

مواد و روش ها

این پژوهش در سال های ۱۳۷۹ و ۱۳۸۰ و به صورت جداگانه در ایستگاه اکباتان مرکز تحقیقات کشاورزی همدان در قالب آزمایش فاکتوریل ۳ * ۴ شامل چهار رقم 'مارفونا'، 'آگریا'، 'دراگا' و 'کنکورد' و آلودگی باکتریایی

Leaf bud cutting -۴	Sprout cutting -۳	Single node cutting -۲	Stem cutting -۱
Acetylsalicylic acid -۸	Frev -۷	Ring rot -۶	True potato seed -۵

در ۳ سطح با دو بیماری ساق سیاه و پژمردگی باکتریایی و شاهد (بدون آلودگی) با طرح پایه به طور کامل تصادفی در ۴ تکرار طی مراحل زیر به اجرا درآمد:

۱- بیماری زایی باکتری های *Pectobacterium (Erwinia) carotovora* subsp. *carotovorum* یکی از عوامل بیماری ساق سیاه سیب زمینی و بیووار II باکتری *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* عامل پژمردگی باکتریایی سیب زمینی پس از جداسازی از ژوخه های آلوده سیب زمینی و خالص سازی آن ها روی گیاهچه های گوجه فرنگی و برگ دیفن باخیا به اثبات رسید. برای جداسازی عامل بیماری از ژوخه ها، ابتدا ژوخه های آلوده با آب معمولی و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس با چاقوی سترون ژوخه ها را برش داده و از قسمت آوندها با پنس سترون قطعه های کوچکی از ژوخه برداشت گردید و در داخل آب مقطر در لوله های آزمایش قرار داده شد و پس از ۱۰ تا ۱۵ دقیقه یک لوپ از تعلیق داخل لوله روی تشتک های دارای محیط کشت SPA (سوکروز + پپتون + آگار) (برای جداسازی باکتری عامل بیماری پژمردگی باکتریایی) و EMB (ائوزین متیلن بلو) (برای جداسازی عامل بیماری ساق سیاه) کشت داده شدند. پس از گذشت دوره زمانی ۴۸ تا ۷۲ ساعته از همگروه های نمایان شده، دوباره کشت باکتری های یاد شده انجام شد و این کار چندین بار تکرار شد تا همگروه های خالص باکتری یاد شده به دست آید. برای اثبات بیماریزایی جدایه ها، از گیاهچه های گوجه فرنگی Vf و سیب زمینی 'گرانولا' استفاده شد. تعلیق عامل بیماری پژمردگی باکتریایی $CFU=10^6$ و چگالی نوری تعلیق باکتری روی معادل نیم واحد od در ۶۰۰ نانومتر تنظیم گردید) که جدایه آن از قبل از سیب زمینی جداسازی، خالص سازی و شناسایی شده بود با روش سوراخ کردن ساقه به گیاهان یاد شده مایه زنی شد (۲۶). در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد پس از ۶ تا ۸ روز نشانه های پژمردگی دیده شد. در گیاهچه هایی که با آب مقطر سترون مایه زنی شدند، هیچ گونه نشانه ها بیماری مشاهده نشد. باکتری *Ralstonia solanacearum* دوباره از ساقه و ریشه گیاهان مایه زنی شده جداسازی شد. اثبات بیماریزایی عوامل ساق سیاه نیز به روش بالا روی بوته های سیب زمینی رقم 'گرانولا' انجام شد و نشانه های پس از ۴ تا ۷ روز دیده شدند.

۲- ژوخه های ۴ رقم سیب زمینی 'مارفونا'، 'آگریا'، 'دراگا' و 'کنکورد' پیش بینی شده در طرح از نظر وجود و یا عدم وجود آلودگی مورد بررسی قرار گرفته تا مشخص شود که ژوخه ها در قبل به بیماری های یاد شده و سایر بیماری ها آلوده نیستند.

۳- ژوخه های گزیده شده از ارقام یاد شده پس از اطمینان از سلامتی، با تعلیق باکتری های مورد نظر مایه زنی شدند. برای این منظور از روش وینستد و کلمن^۱ (۲۶) میزان ۲ میلی لیتر از تعلیق باکتری بیماریزا *Ralstonia solanacearum* بیووار II با غلظت $CFU=10^6$ و فن سوراخ کردن، هریک از ژوخه های ارقام مورد نظر مایه زنی شدند.

۴- مدیریت گیاهان مادری در افزایش سریع سیب زمینی: گیاهان مادری برای تولید قلمه بایستی دارای بیشترین رشد رویشی بوده و از نظر فیزیولوژیکی نیز در شرایط مناسب باشند. بنابراین در هر هفته گلدان های گیاهان مادری با کود کامل تغذیه شدند. فرمول کودی ۲۰-۲۰-۲۰ (NPK) از روش جانن و سیبروک^۲ (۱۶) به کار رفت. عقیده بر این است که طول روز بلند و وضع تغذیه بهینه، مرحله نونهالی را که لازمه برداشت قلمه های مناسب از

بوته‌های مادری می‌باشد را طولانی می‌نماید (۱۹، ۲۰). بنابراین در مراحل رشد بوته‌های مادری از نور تکمیلی لامپ های فلورسنت کم مصرف (به تعداد ۶ لامپ ۲۰ واتی در هر ۱۵ مترمربع) برای افزایش طول دوره نوری ۱ تا ۲ ساعت، استفاده شد.

۵- پس از این که ارتفاع گیاهان مادری تیمار شده به ۳۰ تا ۴۰ سانتی متر رسید (پس از ۲۱ روز) قلمه‌گیری از بوته‌های مایه زنی شده، صورت گرفت و قلمه‌های انتهایی به طول ۱۰ تا ۱۵ سانتی متر تهیه شدند. کاشت قلمه‌ها در داخل جعبه‌های کاشت، در محیط کشت پرلایت، در زیر سیستم مه افشانی و با فواصل ۱۰×۱۰ cm انجام شد. تعداد قلمه‌ها در هر جعبه کاشت (واحد آزمایشی) ۱۰ عدد بود. پس از تکمیل ریشه زایی، درصد ریشه‌زایی محاسبه گردید. سپس برای ژوخه‌زایی در آمیخته خاکی مناسب و در داخل گلدان های کاشت (یک قسمت ماسه + سه قسمت خاک رس یا خاک معمولی + یک قسمت کود پوسیده دامی) در ۱۲ تیمار شامل دو نوع بیماری زای باکتریایی (*R. s.* و *P. c. c.*) و شاهد در چهار رقم سیب‌زمینی در قالب آزمایش فاکتوریل ۴*۳ با طرح پایه به طور کامل تصادفی کشت شدند. هر یک از تیمارها در چهار تکرار اجرا شده و در پایان ۴۸ واحد آزمایشی زیر نظر قرار گرفت.

۶- قلمه‌ها از نظر سلامت و یا آلودگی به صورت هفتگی مورد بازدید قرار گرفتند و از قسمت های مختلف آن‌ها نمونه‌گیری به عمل آمد و مورد آزمون جداسازی عوامل بیماری زا قرار گرفتند. پس از تثبیت گیاهان به دست آمده و تکمیل ژوخه‌زایی، از ژوخه‌های به دست آمده از کاشت قلمه‌ها (ریزژوخه‌ها) نمونه‌گیری شده و با استفاده از آزمون بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی استاندارد (شاهد) از نظر بود و یا نبود وجود باکتری آزمایش شدند. برای این کار، ریزژوخه‌ها پس از برداشت برای آشکار شدن آلودگی های پنهان احتمالی در دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت یک ماه نگهداری شدند. در مدت نگهداری ریزژوخه‌ها، به صورت هفتگی از آن‌ها نمونه‌گیری شده و پس از تهیه تعلیق با آب مقطر سترون و سپری شدن زمان ۱۵ دقیقه‌ای روی محیط‌های SPA و EMB کشت مورد نظر باکتری‌شناسی انجام شد. پس از چند بار کشت، از تعلیق های به دست آمده از ریزژوخه‌ها، جدایه‌های مورد نظر باکتری های عوامل بیماریزا شناسایی شدند.

شایان بیان است که جدایه‌های عامل پژمردگی باکتریایی سیب‌زمینی و جدایه‌های عامل ساق سیاه نیز از قبل در پژوهشی با عنوان شناسایی عوامل ساق سیاه سیب‌زمینی از مزارع سیب زمینی استان همدان جدا شده و در آزمایشگاه بخش تحقیقات آفات و بیماری های گیاهی همدان نگهداری می‌گردید.

۷- تعداد ریزژوخه‌های به دست آمده از چهار رقم مورد استفاده در تیمارهای مختلف شمارش شده و به عنوان یک پارامتر در تجزیه طرح مورد بررسی قرار گرفتند.

مقایسه میانگین‌های درصد ریشه‌زایی قلمه‌ها و نیز ریزژوخه‌های تولید شده به روش آزمون دانکن انجام شد.

نتایج

بررسی درصد ریشه‌زایی نشان داد که اثر رقم در میزان درصد ریشه‌زایی معنی‌دار نبود درصد ریشه‌زایی در رقم های 'آگریا'، 'مارفونا'، 'دراگا' و 'کنکورد' به ترتیب ۷۸/۳۳٪، ۷۶/۶۷٪، ۷۷/۵۰٪ و ۷۸/۳۳٪ به دست آمد. اثر آلودگی به عوامل بیماریزای باکتریایی نیز در میزان درصد ریشه‌زایی تفاوت معنی‌داری نشان نداد و در تیمارهای شاهد و دو بیماریزای ساق سیاه و پوسیدگی قهوه‌ای به ترتیب درصد ریشه‌زایی ۸۳/۷۵، ۷۵/۶۳ و ۷۳/۷۵ به دست آمد (جدول ۱).

از نظر ریزژوخه ها نتایج نشان داد که اثر رقم بر میزان تولید ریزژوخه معنی دار بوده و بیشترین میزان تولید ریزژوخه در رقم 'آگریا' با میانگین ۹/۰۶ در قلمه به دست آمده است. رقم 'مارفونا' کمترین میزان ریزژوخه (میانگین ۶/۸۷ عدد) را تولید نمود که با رقم 'دراگا' با میانگین تولید ۷/۰۶ عدد تفاوت معنی داری نشان نداد. میانگین کل تولید ریزژوخه در تیمارهای شاهد و تیمارهایی که با باکتری های ساق سیاه و پژمردگی باکتریایی (پوسیدگی قهوه‌ای) آلوده ایجاد شده بود تفاوت معنی داری را نشان ندادند (جدول ۲). در بررسی برهمکنش تنها در رقم 'کنکورد' تفاوت معنی داری بین تیمارهای شاهد و تیمارهایی که آلودگی ایجاد شده بود در تعداد ریزژوخه‌ها نشان داد.

در ارزیابی میزان آلودگی پنهان ریزژوخه‌ها به باکتری های ساق سیاه و پوسیدگی قهوه‌ای پس از این که ریزژوخه‌ها به مدت یک ماه در دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتیگراد (برای پدیدار شدن آلودگی های پنهان احتمالی) قرار گرفتند، آزمون های باکتریولوژیکی مربوطه نشان داد که در هیچ یک از ریزژوخه‌ها و در هر چهار رقم آلودگی باکتریایی مشاهده نشد.

جدول ۱- درصد ریشه‌زایی قلمه‌های ساقه سیب‌زمینی در تیمارهای مختلف.

Table 1. Rooting percentage of potato stem cuttings in different treatments.

میانگین Mean	تیمارها Treatments			ارقام Cultivars
	پژمردگی باکتریایی Bacterial wilt	ساق سیاه Black leg	شاهد Control	
76.67A	72.50a	75.00a	82.50a [†]	'مارفونا' 'Marfona'
77.50A	75.00a	77.50a	80.00a	'دراگا' 'Draga'
78.33A	75.00a	75.00a	85.00a	'کنکورد' 'Concord'
78.33A	72.50a	75.00a	78.5a	'آگریا' 'Agria'
	73.50A	75.63A	83.75A	میانگین Mean

[†] Means with the same small or capital letters are not significantly different at 5% level of probability using DMRT.

[‡] میانگین‌هایی که دارای حروف کوچک یا بزرگ یکسان هستند در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی داری نشان ندادند.

بحث

پدیده ریشه زایی در قلمه‌ها بسیار پیچیده است که زیر کنترل عوامل داخلی مانند میزان اکسین درون زاد، همفرسازها^۲، ذخیره کربوهیدرات‌ها، شرایط فیزیولوژیکی گیاه مادری و سطح سلامت مواد گزینش شده گیاهی

قرار می‌گیرد. از سوی دیگر، عوامل خارجی از مانند رطوبت، نور و دما نیز در این فرآیند نقش بسزایی دارند (۷). در این پژوهش ثابت شد که تفاوت معنی‌داری در هر چهار رقم مورد بررسی در ریشه‌زایی در تیمارهای شاهد (قلمه‌های تهیه شده از ژوخه‌های سالم) و تیمارهایی که ژوخه‌های مادری با عوامل بیماری‌زای ساق سیاه و پژمردگی آوندی آلوده شده بودند، وجود ندارند. این نتیجه نشان می‌دهد که سطوح سلامت قلمه‌های ساقه تهیه شده از تیمارهای شاهد و نمونه‌هایی که ژوخه‌های مادری آلوده ایجاد شده بودند، یکنواخت بوده است.

جدول ۲- میزان ریزژوخه‌های به دست آمده از قلمه‌های ساقه سیب‌زمینی در تیمارهای مختلف.

Table 2. Amount of minituber production from stem cuttings in different treatments.

میانگین Mean	تیمارها Treatments			ارقام Cultivars
	پژمردگی باکتریایی Bacterial wilt	ساق سیاه Black leg	شاهد Control	
6.87B	7.10c	6.85c	6.69c [†]	'مارفونا' 'Marfona'
7.06B	7.10c	7.20c	6.90c	'دراگا' 'Draga'
8.73A	8.27b	8.45b	9.45a	'کنکورد' 'Concord'
9.06A	8.57ab	9.17ab	9.45a	'آگریا' 'Agria'
	7.76A	7.92A	8.11A	میانگین Mean

[†] Means with the same small or capital letters are not significantly different at 5% level of probability using DMRT.

[†] میانگین‌هایی که دارای حروف کوچک یا بزرگ یکسان هستند در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

بستر کشت پرلایت هر چند محیطی مناسب برای ریشه‌زایی قلمه‌های ساقه می‌باشد اما کارایی و بازده ریشه‌زایی را نسبت به محیط کشت ماسه‌ای برای قلمه‌های سیب‌زمینی ندارد و با پژوهش‌های پرویزی و خوشخوی (۵) و کول و رایت^۱ (۱۱) که در آن‌ها ثابت شده است که محیط کشت ماسه‌ای محیطی مناسب برای ریشه‌زایی قلمه‌های ساقه سیب‌زمینی می‌باشد، همخوانی دارد. یافته‌های به دست آمده از این پژوهش در درصد ریشه‌زایی قلمه‌های سیب‌زمینی نیز نشان دهنده از این است که بدون کاربرد تنظیم کننده‌های رشد ریشه‌زا نیز توانایی بالایی از ریشه‌زایی در قلمه‌های ساقه سیب‌زمینی وجود دارد، و این که سیب‌زمینی می‌تواند از نظر ریشه‌زایی از گیاهان به نسبت آسان ریشه‌زا باشد بیشتر احساس می‌شود. در بررسی تاثیر نوع رقم بر میزان درصد ریشه‌زایی دیده شد که این ویژگی زیر تاثیر نوع رقم در سیب‌زمینی قرار نمی‌گیرد که نتایج پژوهش‌های بوک و آلی (۱۰) و مارینوس^۲ (۱۸) و نیز پرویزی و خوشخوی (۵) را تأیید می‌کند. در این پژوهش نسبت میزان افزونگی^۳ در سیب‌زمینی وابسته به رقم بوده است که با پژوهش مارینوس (۱۸) همسو می‌باشد.

با بررسی ریزژوخه‌های به دست آمده در تیمارهای مختلف دیده شد که تفاوت رقم در میزان تولید ریزژوخه چشمگیر می‌باشد. به نظر می‌رسد که حجم ریزژوخه‌های به دست آمده متأثر از نوع رقم بوده و ویژگی وراثتی می‌باشد که می‌تواند به میزان تولید دستک در رقم‌های مربوطه بستگی داشته باشد. سلامت گیاهان به دست آمده از کشت قلمه ساقه انتهایی که ژوخه‌های مادری آن‌ها به بیماری‌های ساق سیاه و پژمردگی باکتریایی آلوده شده بودند، تأییدی بر این مهم می‌باشد که به طور معمول باکتری‌های دو بیماری یاد شده در مراحل ابتدایی رشد بوته سیب زمینی در ناحیه پایین بوته و در داخل خاک مستقر شده و فعالیت می‌نمایند و با پیشرفت مراحل رشد و نمو قسمت‌های هوایی بوته سیب زمینی را آلوده می‌نمایند. بنابراین چنانچه در مراحل ابتدایی رشد بوته سیب زمینی اقدام به قلمه‌گیری شود امکان تولید ژوخه سالم فراهم می‌گردد. نتایج به دست آمده با نتایج پژوهش‌های فریو (۱۳) و نلسون^۱ (۲۲) همخوانی دارد.

باتوجه به اهمیت دو بیماری باکتریایی ساق سیاه و پژمردگی باکتریایی در تولید ژوخه بذری از مزارع تولید بذر سیب‌زمینی که از نظر میزان اثرگذاری بر کاهش عملکرد پس از بیماری‌های ویروسی سیب‌زمینی قرار دارند با نتایج این پژوهش ثابت شده است که روش قلمه ساقه به ویژه از این نظر که نیاز به امکانات پیشرفته نداشته و در تمامی شرایط افزایشی قابل اجرا است، از کارآیی و بازده بالایی برخوردار می‌باشد. به ویژه در مواردی که هسته اولیه به میزان محدود در اختیار بوده و به دلایلی آلودگی ایجاد شده باشد اهمیت موضوع چشمگیرتر می‌باشد.

سپاسگزاری

از زحمات جناب آقای مهندس یزدان دوست که صمیمانه در تدارک و تأمین ادوات و وسایل مورد لزوم نویسندگان را همراهی نمودند، سپاسگزاری می‌گردد. همچنین از تلاش‌های آقای بهارعلی غلامی تکنسین بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر تشکر و قدردانی می‌نماییم.

REFERENCES

منابع

- باقری، م. و ح. رحیمیان - ۱۳۷۷ - تشخیص بیووارهای *Ralstonia solanacearum* عامل پژمردگی سیب‌زمینی در مناطق عمده سیب‌زمینی‌کاری ایران. خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. ص ۱۸۸.
- باقری، ع. و م. تقوی - ۱۳۷۷ - تعیین خصوصیات بیووارهای *Ralstonia solanacearum* در فارسی و ارزیابی عکس‌العمل تعدادی از ارقام سیب‌زمینی و گوجه‌فرنگی نسبت به آن‌ها. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. ۹۴ ص.

- بهار، م. و د. دانش - ۱۳۶۵ - بررسی بیماری ساق سیاه سیب‌زمینی در اصفهان. خلاصه مقالات هشتمین کنگره گیاهپزشکی ایران. ص ۱۰۳.
- بهار، م. و د. دانش - ۱۳۶۷ - سبب شناسی پژمردگی سیب‌زمینی در ایران. مجله بیماری های گیاهی ۱۲-۱: ۲۴.
- پرویزی، خ. و م. خوشخوی - ۱۳۷۶ - مقایسه سه روش افزایش سریع سیب‌زمینی از طریق قلمه‌های ساقه، جوانه و تک‌گره سیب‌زمینی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شیراز، ۷۸ ص.
- عرب، ع. م. و ح. رحیمیان - ۱۳۶۸ - پوسیدگی ساقه دیفن باخیا در شمال ایران. خلاصه مقالات نهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. ص ۱۵۱.
- هارتمن، اچ. تی. و دی. ای. کستر - ۱۳۷۰ - ازدیاد نباتات (مبانی و روش‌ها) برگردان از م. خوشخوی. جلد دوم، چاپ دوم، انتشارات دانشگاه شیراز. ۵۵۴ ص.
8. Bonde, R. 1939. Comparative studies of the bacteria associated with potato and black leg and seed-piece decay. *Phytopathology* 29:831-851.
 9. Borkholder, W.H. and U.L. Smit. 1949. *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (var Hall) jennison and *Erwinia carotovora* (Jones) Holland. *Phytopathology* 39:887-897.
 10. Buck, R.W. and R.V. Akely. 1966. How to obtain the most plants from one potato tuber. *Am. Potato J.* 43:129-131.
 11. Cole, E.F. and N.S. Wright. 1967. Propagation of potato by stem cutting. *Am. Potato J.* 44:301-303.
 12. Dickey, R.S. 1979. *Erwinia chrysanthemi* a comparative study of phenotypic properties of strain from several host and other *Erwinia* species. *Phytopathology* 69:324-326.
 13. Frev, E. 1990. Stem sampling and stem multiplication a potential tool in the eradication of bacterial ring rot within 3 years. *Am. Potato J.* 67:548-551.
 14. Goto, M. 1992. *Fundamentals of bacterial Plant Pathology*. Academic Press Inc. Hizuoka, Japan. 342 p.
 15. HayWard, A.C. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu. Rev. Phytopathology* 29:65-84.
 16. Janet, E. and L. Seabrook. 1989. Optimizing the propagation of potato (*Solanum tuberosum*) by stem cutting. *Am. Potato J.* 67:267-274.
 17. Lysiane, H., R.B. Edward, S. Marijki, M. Joris and V. Linda. 1998. Phylogenetic position of phytopathogens within the entero bacteriaceae system. *Appl. Microbiol.* 21:384-397.
 18. Marinus, J. 1987. Multiplication of seed potato by tuber formation in leaf axis of stem derived from single - bud system cutting. *Netherland. J. Agric. Sci.* 35:26-36.
 19. Mergaert, J., K. Verrdon, J. Keresters, J. Swings, M. Boeufgras and J. DeLey. 1984. Numerical taxonomy of *Erwinia* species using API stems. *J. Gen. Microbiol.* 130:1893-1910.
 20. Minhe, T.V.U. and P. Vanderzage. 1990. Rapid multiplication of potato. Influence of environmental and management on growth of juvenile apical cutting. *Am. Potato J.* 67:789-797.
 21. Molina, J. and M.D. Harrison. 1980. The role of *Erwinia carotovora* in the epidemiology of potato black leg. II. The effect of soil temperature on pathogen activity. *Am. Potato J.* 57:351-363.
 22. Nelson, G.A. 1989. Freeing "Russet Burbank" potato plant from ring rot by stem cutting and tuber propagation. *Am. Potato J.* 63:411-414.
 23. Perombelon, M. 1976. Contamination by *Erwinia carotovora* of seed potato stock of stem cutting origin in the process of multiplication. *Potato Res.* 19:335-347.
 24. Taminage, T. and K. Ogasavase. 1979. Bacterial stem rot of potato caused by *Erwinia chrysanthemi*. *Annu. Phytopathol. Soc. Japan* 45:471-477.

25. Vanderzaag, P. and V. Escobar. 1990. Rapid multiplication of potato in the warm tropics: Mother plant managment. *Asian Potato J.* 1:25-28.

26. Winstead, N.N. and A. Kelman. 1952. Inoculation in techniques for evaluating resistance to *Pseudomonas solanacearum* . *Phytopathology* 42:628-634.
27. Yabuuchi, E., Y. Kosako, I. Yano, H. Hotta and Y. Nishiuchi. 1995. Transfer of two *Bur kholderia* and an *Alcoligenes* species to *Ralstonia* gen. nov. proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) Comb. Nov.