Archive of SID

گیاهپزشکی (مجله علمی کشاورزی) جلد ۳۷ شماره ۳، پاییز ۹۳

برهمکنش نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne javanica*) و باکتری عامل جرب معمولی (*Streptomyces scabies*) روی سیب‌زمینی

مینا واحدی هفشجانی[۱] و علی‌اکبر فدایی تهرانی[۲*]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

۲*- **نویسنده مسوول:** استادیار بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد (ma_fadaei@yahoo.com)

تاریخ دریافت: ۹۲/۶/۹ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۱۷

چکیده

باکتری‌های عامل جرب معمولی (*Streptomyces* sp.) و نماتدهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* sp.) از جمله عوامل بیماریزای مهم سیب‌زمینی هستند که هر یک به تنهایی خسارت قابل توجهی به این محصول وارد می‌سازند. به منظور بررسی برهمکنش این بیمارگرها، مایه‌زنی سیب‌زمینی (رقم اگریا) با باکتری *S. scabies* و نماتد *M. javanica* به تنهایی و در ترکیب با هم در زمان‌های مختلف بصورت طرح کاملاً تصادفی با هفت تیمار و شش تکرار در گلخانه انجام شد. مایه‌تلقیح باکتری به نسبت دو درصد وزنی خاک بستر و مایه تلقیح نماتد ۱۰۰۰۰ تخم و لارو سن دو در هر گلدان منظور گردید. نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین شاخص‌های مختلف بیماریزایی بیمارگرها و شاخص‌های رشدی گیاهان، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار اکثر این شاخص‌ها بین تیمارهای مختلف بود. بدین ترتیب که مایه‌زنی جداگانه باکتری و نماتد باعث کاهش بعضی از شاخص‌های رشدی گیاهان نسبت به شاهد گردیدند. شاخص‌های رشدی گیاهان مایه‌زنی شده با باکتری و نماتد نیز نسبت به گیاهان مایه‌زنی شده با باکتری تنها، و شاهد، کاهش نشان دادند. با این‌حال شاخص‌های مذکور، با گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد تنها، تفاوت معنی‌دار نداشتند ولی جمعیت کمتری از نماتد در بافت ریشه و خاک در تیمار اخیر مشاهده شد. به عبارت دیگر وجود باکتری باعث کاهش جمعیت نماتد شده بود. از طرف دیگر زخم غده ناشی از باکتری عامل جرب در گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد ریشه‌گرهی بیش از گیاهان آلوده به باکتری تنها بود.

کلید واژه‌ها: برهمکنش، جرب معمولی، سیب‌زمینی، نماتد ریشه‌گرهی

مقدمه

سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.) از نظر ارزش غذایی معادل گندم و برنج است. میزان تولید جهانی آن در سال ۲۰۱۲ میلادی ۶۲۵ میلیون و چهارصد هزار تن بوده است و از نظر تولید سالیانه بعد از گندم، ذرت، برنج و جو در مقام پنجم قرار گرفته است. سطح زیر کشت این محصول در ایران حدود ۱۸۰ هزار هکتار است که با تولید سالیانه حدود ۵ میلیون تن، بعد از گندم و جو آن را در جایگاه سوم محصولات مهم قرار داده است (فائو[۱]، ۲۰۱۲). باکتری عامل جرب معمولی (*Streptomyces scabies*) یکی از عوامل مهم بیماری‌زا در سیب‌زمینی می‌باشد که عمدتاً با تأثیر بر کیفیت و ارزش اقتصادی این محصول، باعث کاهش

1- FAO

www.SID.ir

Archive of SID

بازارپسندی آن می‌گردد. باکتری علاوه بر ایجاد بیماری روی سیب‌زمینی قادر است به ریشه‌های گوشتی تربچه، شلغم، چغندر، بادام‌زمینی، هویج و شنگ نیز حمله کرده و باعث خسارت کیفی و کمی آنها شود. باکتری عامل جرب معمولی سیب‌زمینی به تمام اندام‌های زیرزمینی گیاه خسارت وارد می‌سازد و ایجاد نکروز از اولین علائم بیماری محسوب می‌شود. حمله باکتری به غده ابتدا باعث توسعه زخم‌هایی روی پریدرم میزبان می‌شود که نتیجه آن، ایجاد بافت چوب‌پنبه‌ای زبر و خشن است که گاهی به صورت برجسته و گاهی حفره‌هایی به عمق حداکثر هفت میلی‌متر ظاهر می‌گردند (شاد و همکاران[1]، ۲۰۰۱). نماتدهای ریشه‌گرهی متعلق به جنس *Meloidogyne* نیز از عوامل بیماریزای مهم سیب‌زمینی محسوب می‌شوند. علائم ایجاد شده توسط این عوامل روی اندامهای‌هوایی، از علائم ناشی از سایر عوامل محیطی و زنده چندان قابل تشخیص نمی‌باشند. با این حال ایجاد گال و تخریب سیستم ریشه از علائم اختصاصی این گروه از عوامل بیماری‌زا محسوب می‌شود که نهایتاً کاهش عملکرد را به دنبال دارد. روی سیب‌زمینی علاوه بر خسارت به سیستم ریشه، در صورت بالابودن جمعیت نماتد، غده‌ها نیز مورد حمله قرار می‌گیرند و کیفیت وبازارپسندی آن‌ها کاهش می‌یابد (کورایم و همکاران[2]، ۲۰۱۲). نماتدها و به ویژه نماتد ریشه گرهی علاوه بر خسارت مستقیم به محصولات با مساعد کردن شرایط برای حمله عوامل بیماری‌زای دیگر و یا شرکت در ایجاد بیماری‌های کمپلکس سبب افزایش خسارت عوامل بیماری‌زای مختلف می‌گردند.

مطالعات زیادی در مورد برهمکنش نماتدهای ریشه‌گرهی با سایر عوامل بیماری‌زای گیاهی انجام شده است که در این میان باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی سهم قابل توجهی دارند. برهمکنش گونه‌های مختلف نماتد ریشه‌گرهی با باکتری‌های *Ralostonia solanacearum* و *Pectobacterium carotovorum* روی سیب‌زمینی، برهمکنش نماتد *M. incognita* و باکتری *Xanthomonas compestris* بر روی نخود (صدیقی و همکاران[3]، ۲۰۱۳a) ، برهمکنش *Pectobacterium carotovorum* و *Xanthomonas compestris* pv. *carotae* با *Meloidogyne javanica* روی هویج (صدیقی و همکاران[4]، ۲۰۱۳b) و برهمکنش نماتد *M. incognita* و باکتری *Agrobacterium tumefacience* بر روی گوجه‌فرنگی (الشریف و الوکیل[5]، ۱۹۹۱)، از جمله این تحقیقات بوده است. لازم به ذکر است که در اکثر موارد مذکور نماتد باعث افزایش شدت بیماری باکتریایی و در نتیجه کاهش محصول شده است. علیرغم اهمیت بیماری جرب معمولی در اکثر مناطق تحت کشت سیب‌زمینی و مطالعه عوامل مؤثر در شدت این بیماری مطالعه‌ای در مورد اثر نماتد ریشه‌گرهی روی شدت بیماری مذکور صورت نگرفته است. شاید یکی از دلایل این موضوع کشت سیب‌زمینی در نواحی خنک باشد. بنابراین، نماتد ریشه‌گرهی به ویژه اکثر گونه‌های شایع که در نواحی معتدل تا گرم‌تر گسترش دارند، بیمارگر مهمی برای سیب‌زمینی محسوب نمی‌شوند. با اینحال در ایران سیب‌زمینی در مناطق گرم نیز کشت می‌گردد و در اکثر مناطق نیز نماتد ریشه‌گرهی گسترش داشته و به سیب‌زمینی خسارت وارد می‌سازد.

با توجه به اهمیت اقتصادی سیب‌زمینی و خسارت قابل ملاحظه دو بیماری جرب معمولی و نماتد ریشه‌گرهی روی سیب‌زمینی، جهت بررسی نقش هریک از عوامل مذکور روی بیماری‌زایی و خسارت

1- Shaad *et al.*
2- Korayem *et al.*
3- Siddiqui *et al.*
4- Siddiqui *et al.*
5- EL- Sherif & Elwakil

www.SID.ir

Archive of SID

عامل دیگر، برهمکنش *S. scabies* و *M. javanica* روی سیب‌زمینی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تکثیر و تعیین گونه نماتد

به منظور تهیه اینوکلوم نماتد تعدادی نمونه خاک و ریشه از مزارع آلوده گوجه‌فرنگی جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. جهت تکثیر و تهیه جمعیت خالص نماتد، با استفاده از میکروسکوپ تشریح تک توده تخم‌هایی از ریشه جدا و هر یک در مجاورت ریشه یک بوته گوجه‌فرنگی حساس رقم روتگر (یک هفته بعد از نشا) قرار داده شد. گیاهان مذکور در شرایط گلخانه (دمای ۲۵-۲۸ درجه سانتیگراد و ۱۴ ساعت روشنایی) با آبیاری مناسب نگهداری شدند. جهت تعیین گونه نماتد، بعد از گذشت دو ماه ریشه‌های آلوده از خاک خارج و پس از شستشو با آب، در زیر میکروسکوپ تشریح تعدادی از ماده‌های بالغ از بافت خارج و پس از تثبیت و آبگیری، از آنها اسلایدهای دائمی تهیه گردید. سپس خصوصیات ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی آنها بررسی و اندازه‌گیری شد. جهت بررسی الگوی شبکه کوتیکولی انتهای بدن، پس از آماده‌سازی ماده‌ها در اسید لاکتیک از قسمت انتهایی آنها برش عرضی تهیه گردید.

جداسازی و شناسایی باکتری عامل جرب معمولی

طی فصل زراعی سال ۱۳۹۰ ضمن بازدید از مناطق مختلف سیب‌زمینی‌کاری استان چهارمحال و بختیاری، غده‌های دارای علائم بیماری جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. غده‌های سیب‌زمینی آلوده به بیماری جرب پس از شستشو با آب به قطعات کوچک تقسیم گردیدند و به آب مقطر سترون منتقل و در بن ماری به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. سپس از آنها نمونه‌هایی روی محیط کشت[1] (آب آگار ۱/۲ درصد حاوی ۵۰ میلی‌گرم نیستاتین، ۵ میلی گرم پلی‌میکسین سولفات، ۱۰میلی‌گرم سدیم پنی سیلین G و ۵۰ میلی گرم سیکلو هگزامید در لیتر) منتقل و به مدت ۱۰ روز در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. اسپورهای ایجاد شده روی قطعات یا اطراف آن برداشته شد و روی محیط حاوی عصاره مخمر[2] حاوی آنتی‌بیوتیک‌های فوق تا تهیه پرگنه خالص کشت مجدد انجام شد (گویر و بیلیو[3]، ۱۹۹۷).

آزمون‌های بیماریزایی و فنوتیپی باکتری

آزمون بیماری‌زایی: به منظور تشخیص انواع بیماریزای باکتری از فرم‌های غیر بیماریزا، آزمون‌های بیماریزایی روی تربچه و سیب‌زمینی صورت گرفت بدین ترتیب که ابتدا بذور تربچه را با محلول هیپوکلرید سدیم ۱۰٪ تجارتی ضدعفونی و پس از شستشو با آب مقطر سترون، به منظور جوانه‌زنی به مدت ۲۴ ساعت روی محیط آب‌آگار در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. گیاهچه‌های حاصل به لوله‌های حاوی محیط کشت آب آگار ۱۰ درصد سترون منتقل و با یک میلی‌لیتر سوسپانسیون 10^7 میلی‌لیتر مایه‌زنی گردید و علائم ایجاد شده دو هفته بعد ارزیابی شدند (شاد و همکاران، ۲۰۰۱). آزمایش بیماری‌زایی روی سیب‌زمینی در شرایط گلخانه و از طریق مایه‌زنی خاک گلدان انجام شد. بدین ترتیب که ابتدا برای تهیه مایه تلقیح، جدایه باکتری در ارلن حاوی ۱۰۰ گرم ورمیکولیت اشباع شده با محلول غذایی (۲۰ گرم سوکروز، ۱/۲ گرم ال-آسپاراژین، ۰/۶ گرم فسفات دی پتاسیم و ۱۰ گرم عصاره مخمر در لیتر آب) کشت داده و در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد به مدت دو هفته نگهداری شد. غده‌های سیب‌زمینی (رقم آگریا) پس از شستشو با آب و ضدعفونی در محلول وایتکس ۱۵٪ تجاری به مدت ۱۰ دقیقه، با سوزن سترون زخمی گردیدند. ۵۰ گرم از زادمایه تهیه شده به هر گلدان سه کیلویی اضافه و غده در عمق پنج سانتی‌متری آنها کشت گردید. کشت در گلدان‌های بدون زادمایه به عنوان شاهد در آزمون منظور

1- NPPC-WA

2- Yeast Extract Malt Agar (YMEA)

3- Goyer & Beaulieu

www.SID.ir

Archive of SID

شد. علائم بیماری بعد از حدود شش ماه مورد بررسی قرار گرفت (گویر و بیلیو، ۱۹۹۷؛ شاد و همکاران، ۲۰۰۱).

آزمون‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی: جهت تعیین گونه باکتری، از مشخصات ظاهری پرگنه و اسپور (رنگ و شکل) و آزمون‌های مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی (شامل رنگ‌آمیزی گرم، استفاده از قندهای مختلف، رشد در اسیدیته‌های مختلف، تحمل درصدهای مختلف نمک طعام و....) به روش (شاد و همکاران، ۲۰۰۱) استفاده گردید.

برهمکنش نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* و باکتری عامل جرب معمولی *S. scabies*

برای انجام آزمایش غده‌های سیب‌زمینی رقم اگریا پس از شستشو با آب و ضدعفونی با محلول هیپوکلریت سدیم (۱۵٪ مایع سفیدکننده تجاری به مدت ۱۰ دقیقه) در عمق پنج سانتی متری خاک بستر گلدان کشت گردید. در تیمار باکتری همراه با اعمال زخم مکانیکی با سوزن سترون، زخم‌های کوچکی روی غده‌ها ایجاد گردید. در تیمارهای دریافت‌کننده باکتری، مایه‌تلقیح (تهیه شده به روش ذکر شده در آزمایش بیماری‌زایی) به نسبت ۲٪ با خاک بستر گلدان مخلوط گردید. در تیمارهایی دریافت‌کننده نماتد، جمعیت تخم و لارو مورد نظر با پیپت در نزدیکی غده کشت شده تلقیح گردید. گیاهان به مدت ۱۴ هفته در شرایط گلخانه با دمای ۲۵ ± ۳ درجه سانتیگراد نگهداری و مراقبت‌های لازم صورت گرفت. ارزیابی نتایج با استفاده از شاخص‌های رشدی گیاه (طول گیاه، وزن تر و خشک اندام‌هوایی، ریشه، غده) شاخص‌های رشد و نموی نماتد انجام شد. از خصوصیات کیفی (میزان نشاسته) و علائم ظاهری غده‌ها نیز برای مقایسه تیمارهای مختلف استفاده شد. جهت تعیین درصد ماده خشک، غده‌ها را به ورقه‌های نازکی برش داده و در ظروف آلومینیومی در آون ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت خشک گردید و درصد ماده خشک محاسبه شد. درصد نشاسته بر اساس ماده خشک بدست آمده با استفاده از فرمول زیر (بو کانتریراز و رائو[1]، ۲۰۰۱) تعیین شد.

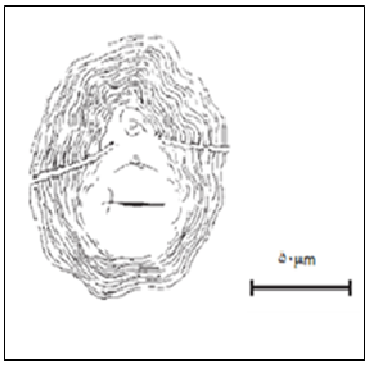
درصد نشاسته = (۰/۸۹۱ × درصد ماده خشک) – ۲۴/۱۸ + ۱۷/۵۴۶

مقایسه شدت بیماری باکتریایی بر اساس درصد زخم روی غده انجام شد که سطح غده و سطح زخم‌ها به روش جدا کردن پوست غده‌ها و اندازه‌گیری با کاغذ شطرنجی انجام شد. داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل گردید.

نتایج و بحث

تعیین گونه نماتد

انحنای نسبتاً کم کمان‌پشتی و مشاهده شیارهای مشخص جانبی در الگوی شبکه کوتیکولی انتهای بدن نماتد ماده (شکل ۱) و طول استایلت ماده ۱۶ (۱۴–۱۸) میکرون با شرح اصلی گونه *M. javanica* تطابق نشان داد. بلندی دو میکرونی ناحیه سر و هم‌تراز بودن آن با بدن، گره‌های مشخص استایلت، طول استایلت ۱۱ (۱۰–۱۲) میکرومتر، طول بخش روشن دم ۱۳ (۱۱–۱۶) میکرومتر، طول دم ۵۲ (۴۶–۵۷) میکرومتر و میانگین طول بدن ۵۳۵ (۴۱۰–۵۶۰) میکرومتر از جمله خصوصیات ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی لاروهای سن دوم نماتد مورد بررسی بودند که با شرح گونه *M. javanica* تطابق نشان داد (جپسون[2]، ۱۹۸۷).



شکل ۱- شبکه کوتیکولی انتهای بدن نماتد *M. javanica*

1- Bu-contreras & Rao
2- Jepson

www.SID.ir

Archive of SID

تعیین باکتری عامل جرب معمولی

در جداسازی عامل بیماری از غده‌های با علائم جرب معمولی چندین جدایه باکتری از نمونه‌ها جدا گردید که پس از خالص‌سازی جدایه‌ای که با توجه به شکل پرگنه و رنگ اسپورها به گونه *S. scabies* شباهت داشت برای آزمون‌های بیماری‌زایی و بیوشیمیایی انتخاب گردید (شکل ۲).

با توجه به خصوصیات مرفولوژیک پرگنه باکتری، علائم مختلف ایجاد شده روی تربچه (کوتولگی، عدم خروج برگ اولیه از بذر، بافت‌مردگی و مرگ گیاهچه) و سیب‌زمینی (علائم مختلف جرب فرورفته، برجسته و سطحی بر روی غده) (شکل ۳) در آزمایش‌های بیماری‌زایی و نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی (جدول ۱) باکتری جدا شده *S. scabies* تشخیص داده شد.

برهمکنش نماتد ریشه‌گرهی و باکتری عامل جرب معمولی

شاخص‌های رشد گیاه: نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از انجام تیمارهای مختلف آزمایش مؤید معنی‌دار بودن آنها بود (جدول ۲). مقایسه میانگین شاخص‌های مختلف رشدی نیز نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین اغلب تیمارها و شاخص‌های مذکور بود (جدول ۳). یکی از شاخص‌های تأثیرپذیر از تیمارهای مختلف آزمایش ارتفاع گیاهان بود که بیشترین و کمترین مقدار را به ترتیب در گیاهان شاهد و گیاهان مایه‌زنی شده با باکتری و نماتد بطور همزمان داشت. طول ریشه نیز وضعیتی مشابه داشت. حضور نماتد در تمام موارد باعث کاهش معنی‌دار در ارتفاع گیاهان نسبت به شاهد گردید ولی مایه‌زنی گیاهان با باکتری کاهش معنی‌داری در ارتفاع آنها نسبت به شاهد ایجاد نکرد. همچنین حضور باکتری در تیماری‌هایی که نماتد وجود نداشت نیز باعث افزایش معنی‌دار در کاهش ارتفاع گیاهان نشد. به عبارت دیگر ارتفاع گیاهان مایه‌زنی شده با هر دو پاتوژن (صرف نظر از تقدم یا تأخر آنها نسبت به هم) نسبت به گیاهان مایه‌زنی‌شده به نماتد به تنهایی، تفاوت معنی‌دار نشان ندادند. این موضوع می‌تواند مؤید تأثیر بسیار اندک باکتری عامل جرب معمولی روی اندام‌های هوایی میزبان باشد (لوریا[1]، ۱۹۹۱). حتی زخمی کردن غده نیز باعث اختلاف معنی‌دار در ارتفاع گیاهان نسبت به شاهد نشد ولی این تفاوت با تیمار باکتری به تنهایی معنی‌دار بود که می‌تواند ناشی از اثر زخم در تحریک مکانیسم دفاعی گیاه باشد (هوگو و همکاران[2]، ۱۹۹۵).

نتایج فوق در مورد سایر شاخص‌های رشدی نیز تا حدود زیادی مشابه بود و تنها در بعضی موارد با روند فوق تفاوت نشان داد. برای مثال با آنکه وزن خشک اندام‌های هوایی گیاهان مایه‌زنی شده با باکتری نسبت به

شکل۲- کلنی جدایه *S.scabies*

شکل۳- علائم ایجاد شده توسط باکتری *S.scabies*

1- Loria
2- Hugo *et al.*

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱- خصوصیات مرفولوژیکی، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و تغذیه ای جدایه باکتری مورد بررسی

نوع آزمایش	واکنش
رنگ‌آمیزی گرم	+
نوع زنجیره اسپور	مارپیچ
رنگ توده اسپور	خاکستری
سطح اسپور	صاف
تحمل نمک طعام	
٪۵	+
٪۷	–
٪۱۰	–
رشد در ۳۷	+
رشد در PH:	
۴	–
۴/۵	–
۵	+
۵/۵	+
۶	+
استفاده از :	
دی- فروکتوز	+
دی-گلوکز	+
دی-مانیتول	+
رافینوز	+
رامنوز	+
سوکروز	+
دی-زایلوز	+
مزواینوسیتول	+
دی-گالاکتوز	+
سالیسین	+
ریبوز	+
ال هیدروکسی پرولین	+
ال متیونین	+

جدول۲-تجزیه واریانس شاخص‌های رشدی سیب‌زمینی در برهمکنش نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* و باکتری جرب معمولی *S.scabies*

		میانگین مربعات								
		اندام‌هوایی			ریشه		غده			
منابع تغییرات	درجه آزادی	طول	وزن تر	وزن خشک	طول	وزن تر	وزن خشک	درصد ماده خشک	درصد نشاسته	درصد زخم
تیمار	۶	۴۲۰/۷*	۱۶۱/۵*	۱۶/۹*	۵۹۶/۹*	۱۹۵*	۱/۴*	۶/۹*	۱۱/۳*	۳۰/۹*
خطا	۳۵	۳۹/۸	۱۰/۵	۰/۴	۸/۱	۲/۸	۰/۰۱	۲/۷	۴/۷	۰/۶
CV		۲۲/۵	۲۶	۲۰/۷	۱۷/۴	۲۶/۶	۲۷/۲	۱۲	۳۸/۸	۲۸/۴

*: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ ٪ و n.s: عدم اختلاف معنی‌دار.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۳-مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی و کیفی سیب‌زمینی در برهمکنش نماتد ریشه‌گرهی(*M. javanica*) و باکتری عامل جرب معمولی (*S. scabies*) ۱٤ هفته بعد از تلقیح

تیمار	طول‌ساقه (cm)	وزن تر ساقه (gr)	وزن خشک ساقه (gr)	طول ریشه (cm)	وزن تر ریشه (gr)	وزن خشک ریشه (gr)	درصد ماده خشک غده (gr)	درصد نشاسته(gr)	درصدزخم (mm)
شاهد	۳۵/۵^{ab}	۲۰/۷^{a}	۵/۷^{a}	۳۷/۸^{a}	۱۸^{a}	۱/۵^{a}	۱۴/۸^{a}	۸/۱^{a}	-
باکتری	۲۹/۸^{bc}	۱۳/۲^{b}	۳/۴^{ab}	۱۷/۵^{b}	۷/۸^{b}	۰/۳^{b}	۱۴/۵^{a}	۶/۲^{ab}	۱/۹^{d}
نماتد	۱۹^{d}	۷/۹^{cd}	۰/۸^{d}	۱۱/۴^{c}	۳/۷^{c}	۰/۲^{bc}	۱۲/۴^{bc}	۴/۴^{b}	-
نماتد+ باکتری	۱۷/۶^{d}	۶^{d}	۱/۲^{d}	۹/۱^{c}	۱/۸^{c}	۰/۱^{c}	۱۱/۸^{c}	۳/۸^{b}	۴^{b}
باکتری دو هفته قبل از نماتد	۳۳/۳^{ab}	۱۱/۳^{bc}	۳/۶^{b}	۱۶/۷^{b}	۷^{b}	۰/۳^{b}	۱۴^{ab}	۵/۸^{ab}	۲/۹^{c}
نماتد دو هفته قبل از باکتری	۲۲/۵^{dc}	۱۰/۱^{bc}	۲/۵^{c}	۱۰/۸^{c}	۳^{c}	۰/۲^{bc}	۱۳/۷^{abc}	۵/۶^{ab}	۶^{a}
باکتری+ زخم	۳۸/۶^{a}	۱۷/۳^{a}	۳/۷^{b}	۱۱/۲^{c}	۲/۳^{c}	۰/۳^{b}	۱۳/۵^{abc}	۵/۴^{b}	۴/۵^{b}

اعداد میانگین شش تکرارهستند.

میانگین‌های با حروف مشابه بر اساس آزمون LSD (در سطح ۵٪) تفاوت معنی‌دار ندارند .

شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت ولی تفاوت وزن تازه آنها معنی‌دار بود. به عبارت دیگر آلودگی باکتریایی شادابی و طراوت گیاهان را کاهش داده بود. همچنین با وجود تأثیر معنی‌دار باکتری روی وزن تر و خشک ریشه، این اثر روی میزان نشاسته غده‌ها نسبت به شاهد معنی‌دار نبود. حضور همزمان دو پاتوژن باعث کاهش معنی‌دار اکثر شاخص‌های رشدی نسبت به شاهد و تیمار باکتری به تنهایی گردید ولی تفاوت‌های مذکور با تیمار نماتد به تنهایی در اغلب موارد معنی‌دار نبود به عبارت دیگر بیشتر کاهش‌های ایجاد شده ناشی از اثر وجود نماتد بود. این نتایج با توجه به نحوه ایجاد بیماری باکتری جرب معمولی قابل انتظار بود زیرا بیشترین خسارت باکتری به غده وارد می‌شود که با ایجاد زخم باعث کاهش کیفیت و بازارپسندی آن می‌شود. مایه‌زنی باکتری قبل از تلقیح نماتد در مواردی باعث کاهش اثر نماتد گردید، به نحوی که وزن تر و خشک ریشه و اندام‌های هوایی در گیاهانی که دو هفته قبل از اضافه‌کردن نماتد، با باکتری مایه‌زنی شده بودند، نسبت به گیاهان تلقیح شده با نماتد تنها، افزایش معنی‌دار نشان دادند. این اثر احتمالا ناشی از تحریک بیان بعضی از ژن‌های دفاعی گیاه (پروتئازها) در مقابل حمله نماتد و کاهش اثر آن بوده است (هوگو و همکاران، ۱۹۹۵). نماتد ریشه‌گرهی با ایجاد تغییرات ساختمانی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی باعث بروز اختلالات زیاد در گیاه میزبان و در نتیجه کاهش رشد آن می‌شود. آلودگی ریشه موجب اختلال درجذب و انتقال آب و موادغذایی به بخش‌های فوقانی و فتوسنتزکننده و در نتیجه کم‌رشدی اندام‌های هوایی گیاه وتغییر رنگ یا زردی برگ‌ها می‌شود. علاوه براین نماتد با نفوذ به داخل ریشه و ترشح آنزیم‌های مختلف همچون پروتئازها، متابولیسم میزبان را به نفع خود و عوامل بیماریزا تغییر می‌دهند که کاهش درصد ماده خشک، کربوهیدرات و قند غده‌ها را باعث خواهد شد. مایه‌زنی باکتری می‌تواند باعث فعال شدن مکانیسم دفاع بیوشیمیایی عمومی در گیاه شود که در نتیجه آن عوامل بیماریزای بعدی (در این مورد نماتد ریشه‌گرهی) کمتر قادر به حمله و ایجاد خسارت خواهند بود. بنابراین کمتر شدن خسارت نماتد در تیماری که قبلاً توسط باکتری مایه‌زنی شده بود می‌تواند ناشی از این اثر باشد. (کورایم و همکاران، ۲۰۱۲).

www.SID.ir

Archive of SID

غده: نتایج وزن خشک و درصد نشاسته در برهمکنش نماتد ریشه‌گرهی و باکتری عامل جرب معمولی روی غده نیز مشابه اثر بر شاخص‌های رشدی بود. بدین ترتیب که شاخص‌های مذکور در غده گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد به تنهایی و مایه‌زنی همزمان باکتری و نماتد با گیاهان شاهد و گیاهان مایه‌زنی شده با باکتری تنها تفاوت معنی‌دار داشتند ولی تفاوت سایر تیمارها معنی‌دار نبود. در حالی‌که در مورد درصد زخم روی غده‌ها، میانگین مذکور در تمام تیمارهایی که دو پاتوژن حضور داشتند نسبت به شاهد و تیمار باکتری به تنهایی تفاوت معنی‌دار داشتند. به عبارت دیگر وجود نماتد باعث تشدید آلودگی و خسارت بیماری باکتریایی شده بود. این اثر در زمان‌های مختلف مایه‌زنی نماتد نسبت به باکتری نیز متفاوت بود به نحوی که بیشترین اثر مربوط به زمانی بود که نماتد دو هفته قبل از باکتری به گیاهان مایه‌زنی شده بود. مقایسه تیمارهای مایه‌زنی با هر دو پاتوژن با تیمار باکتری همراه زخم نیز نشان داد که بیشترین اثر نماتد در تشدید آلودگی باکتریایی مربوط به ایجاد زخم برای ورود باکتری بوده است. به عبارت دیگر هر چند باکتری از منافذ طبیعی به ویژه عدسک‌های موجود روی غده به آن حمله می‌کند، ولی وجود زخم‌های ایجاد شده روی غده در اثر حمله و نفوذ نماتد می‌تواند مسیرهای بیشتر و راحت‌تری را برای نفوذ اختلال در سیستم دفاعی گیاه در اثر حمله نماتد نیز می‌تواند دخالت داشته باشند، که جدا کردن آنها در این بررسی امکان‌پذیر نبود (هاون[1]، ۱۹۷۱؛ صدیقی و همکاران، ۲۰۱۳a). لارو سن دوم نماتد ریشه‌گرهی از ناحیه پشت مریستم انتهایی و یا از طریق عدسک‌ها وارد ریشه گیاه می‌شود (وولاس و همکاران[2]، ۲۰۰۵). باکتری جرب معمولی سیب‌زمینی نیز عمدتاً از طریق عدسک‌ها، روزنه‌ها، یا زخم‌ها به گیاه حمله می‌کند (گوس و وهنر[3]، ۲۰۰۴). بنابراین زخم‌های ایجاد شده توسط نماتد و تغییرات فیزیولوژیکی پس از آن می‌توانند، از عوامل مستعد کننده گیاه برای بهتر پذیرا شدن باکتری باشد. افزایش معنی‌دار درصد زخم در گیاهان تلقیح شده با نماتد و باکتری نسبت به گیاهان مایه‌زنی شده با باکتری می‌تواند گواه این امر باشد.

شاخص‌های رشد و نموی نماتد:

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و نموی نماتد ریشه‌گرهی در آزمایش برهمکنش آن با باکتری عامل جرب معمولی روی سیب‌زمینی نشان دهنده تفاوت معنی‌دار اکثر پارامترها بین تیمارهای مختلف بود (جدول‌های ۴ و ۵). میانگین تعداد گال در واحد وزن ریشه در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌دار داشتند به نحوی که میانگین مذکور در تیمارهای مایه‌زنی شده با

جدول٤- تجزیه واریانس شاخص‌های رشد و نموی نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* در برهمکنش با باکتری عامل جرب معمولی *S. scabies*

منابع تغییرات	درجه آزادی	گال	توده تخم	تعداد تخم داخل توده	لارو	نسبت تعدادتوده تخم به تعداد گال	فاکتور تولید مثل
تیمار	۶	۴۰۷۱/۳*	۳۵۳۱/۴*	۱۰۷۱۹۲/۷*	۲۵۸۳۸/۲*	۰/۷*	۱۰۰/۶*
خطا	۳۵	۴/۶	۳۸/۷	۳۸۷۲/۹	۶۰/۶	۰/۰۱	۰/۱۴
Cv		۱۲/۸	۲۶/۹	۱۶/۹	۱۰	۱۹/۵	۱۴/۶

*: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ ٪، n.s: عدم اختلاف معنی‌دار

1- Haven
2- Vovlas *et al.*
3- Gouws & Wehner

www.SID.ir

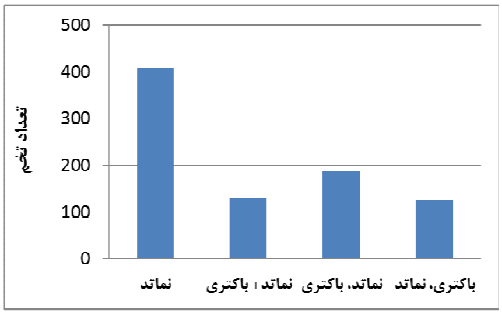
Archive of SID

جدول۵- مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و نموی نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* در برهمکنش با باکتری عامل جرب معمولی *S. scabies*

تیمار	تعداد گال در یک گرم ریشه	تعداد توده تخم در یک گرم ریشه	تعداد تخم داخل توده تخم	تعدادلاردر ۱۰۰گرم خاک	نسبت‌تعدادتوده تخم به تعدادگال	فاکتورتولید مثل
نماتد	۷۲^{a}	۵۶/۳^{a}	۴۰۸/۶^{a}	۱۶۹/۸^{a}	۰/۸^{a}	۸/۸^{a}
باکتری+ نماتد	۱۴/۳^{c}	۱۰/۷^{b}	۱۳۰^{c}	۱۱۱/۵^{b}	۰/۷^{b}	۰/۶^{bc}
نماتد دو هفته قبل از باکتری	۲۴/۷^{b}	۱۵/۵ ^{c}	۱۸۷/۲^{b}	۴۵/۶^{c}	۰/۶^{b}	۱^{b}
باکتری دو هفته قبل از نماتد	۶/۳^{d}	۱/۵^{d}	۱۲۴/۸^{c}	۳۵/۸^{d}	۰/۲^{c}	۰/۲^{c}

اعداد میانگین شش تکرارهستند. میانگین‌های با حروف مشابه بر اساس آزمون LSD (در سطح ۵٪) تفاوت معنی‌دار ندارند.

باکتری نسبت به تیمار بدون تلقیح باکتری بسیار بیشتر بود.به عبارت دیگر وجود باکتری، تشکیل گال توسط نماتد را بشدت کاهش داده بود. این کاهش در تیمارهایی که باکتری قبل یا همزمان با نماتد مایه‌زنی شده بود، بیشتر بود. نتایج تقریباً مشابهی در مورد تعداد توده تخم، تعداد تخم در هر توده تخم (شکل ۴) و فاکتور تولیدمثل مشاهده گردید. به بیان دیگر حضور باکتری در همه تیمارها سبب کاهش شاخص‌های رشد و نموی نماتد شده بود.



شکل٤- میانگین تعداد تخم در توده تخم در ریشه‌های سیب‌زمینی آلوده به نماتد ریشه‌گرهی و باکتری عامل جرب معمولی

هر چند این تفاوت در تیمار تعداد تخم نماتد بین تیمارهای باکتری و نماتد همزمان و نماتد دو هفته قبل از باکتری معنی‌دار نبود. به دلیل آن‌که تعداد گال با تعداد لاروهای وارد ریشه شده ارتباط مستقیم دارد، پایین بودن میانگین تعداد گال در گیاهان مایه‌زنی شده با باکتری را می‌توان به اثر ممانعت از ورود آن نسبت داد که کلونیزه کردن محل‌های ورود نماتد و یا تحریک دفاع گیاه و مقابله با ورود نماتد می‌تواند مکانیسم‌های احتمالی درگیر باشند. البته اثر مستقیم باکتری روی لارو را نیز نمی‌توان از نظر دور داشت زیرا در تیمار مایه‌زنی همزمان دو پاتوژن نیز تعداد گال و شاخص‌های دیگر به شدت نسبت به شاهد (نماتد تنها) کاهش یافته است که مکانیسم جلوگیری از تکثیر و تولید مثل نماتد توسط باکتری می تواند ناشی از تحریک سیستم دفاعی گیاه توسط باکتری باشد (چن و همکاران[1]، ۲۰۰۰).

1- Chen *et al.*

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

1. Bu-contrerase, R., and Rao, M.A. 2001. Influence of heating conditions and starch on the storage modulus of russet Burbank and Yukon gold potatoes. Journal of the Science of Food and Agriculture, 81: 1504-1511.

2. Chen, J., Abawi, G.S., and Zuckerman, B.M. 2000. Efficacy of *Bacillus thuringiensis*, *Paecilomyces marquandii*, and *Streptomyces costaricanus* with and without organic amendments against *Meloidogyne hapla* infecting lettuce. Journal of Nematology, 32: 70-77.

3. El- Sherif, A.G., and Elwakil, M.A. 1991. Interaction between *Meloidogyne incognita* and *Agrobacterium tumefacience* or *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* on tomato. Journal of Nematology, 23(2): 239-142.

4. Faostat. fao.org. Retrieved 22 August 2012.

5. Gouws, R., and Wehner, F.C. 2004. Biofumigation as alternative control measure for common scab on seed potatoes in South Africa. Plant Pathology, 3: 5-8.

6. Goyer, C., and Beaulieu, C. 1997. Host range of *Streptomycete* strains causing common scab. Plant Disease, 81: 901-908.

7. Haven, E.G. 1971. Mode of transmission of *Corynebacterium insidiosum* by *Ditylenchus dipsaci.* Journal of Namatology, 3: 420-421.

8. Hugo, P., Fisahen, J., and Willmitzer, L. 1995. Signals involved in wound-induced proteinase inhibitor π gene expression in tomato and potato plants. Proc. Natle. Acad. Sci. USA, 92: 4106-4113.

9. Korayem, A.M., Mohamed, M., and Abou-hossein, S.D. 2012. Damage threshold of root-knot nematode *Meloidogyne arenaria* to potatoes grown in naturally and artificially infected fields and its effect on some tubers properties. Journal of Applied Science Research, 8(3): 1445-1452.

10. Jepson, S.B. 1987. Identification of root Knot nematode (*Meloidogyne* species). CAB. International, Wallingford, Oxon, United Kingdom, 265 pp.

11. Loria, R. 1991. Vegetable/ horticultural crop. Diseases of Potato, 275.

12. Loria, R., Clarc, C.A., Bukhalid, R.A., and Fry, B.A. 2001. Plant pathogencity in the genus *Streptomyces*. Plant Diseases, 81: 836-846.

13. Schaad, N., Jones, W., and Chun, W. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3nd. ed. APS. Press, 373p.

14. Siddiqui, Z.A., Fatima, M., and Alam, S. 2013a. Interaction *Meloidogyne incognita*, *Xanthomonas campestris*, and *Rizobium* sp. In the disease complex of chickpea. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 37: 173-178.

www.SID.ir

Archive of SID

15. Siddiqui, Z.A., Shehzad, M., and Alam, S. 2013b. Interaction of *Ralstonia solanacearum* and *Pectobacterium caratovorum* with *Meloidogyne* on potato. International Journal of Vegetable Science, 19: 403-411

16. Vovlas, N., Mifsud, D., Landa, B.B., and Castillo, P. 2005. Pathogenicity of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* on Potato. Plant pathology, 54: 664-657.

www.SID.ir