برهمکنش درون‌زیوه‌ای *Verticillium dahliae*، عامل پژمردگی ورتیسیلیومی پسته با *Acremonium kiliense* *

In vivo INTERACTION OF *Verticillium dahliae*, THE CAUSAL AGENT OF PISTACHIO VERTICILLIUM WILT, WITH *Acremonium kiliense*

زهره نسیمی**، ضیاالدین بنی‌هاشمی و رضا مستوفی‌زاده قلمفرسا[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۸/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۴/۲۵)

چکیده

مطالعه حاضر برای دست‌یابی به شیوه‌ای سازگار با محیط زیست برای مدیریت این بیماری انجام گرفت. به منظور مطالعه برهمکنشِ *Verticillium dahliae* عامل پژمردگی آوندی پسته و *Acremonium kiliense*، قارچ درون‌رُست جدا شده از پسته، از نهال‌های نه ماهه سه رقمِ پسته سرخس، بادامی ریز زرند و قزوینی استفاده شد. مایه‌زنی *A. kiliense* به ارقام مذکور توسط سوسپانسیون کنیدیوم‌ها به غلظتِ 10^6 کنیدیوم در میلی‌لیتر با روش غوطه‌وری ریشه صورت گرفت. گیاهان مایه‌زنی شده به گلدان‌های کوچک حاوی خاک سترون انتقال داده شده، پس از یک ماه نهال‌ها به گلدان‌های حاوی ۴۰ میکرواسکلروت ورتیسیلیوم در گرم خاک منتقل شدند. نتایج این آزمایش با استفاده از آزمایش فاکتوریل با در نظر گرفتن دو فاکتور رقم و تیمار قارچی به ترتیب با سه و چهار سطح و سه تکرار برای هر ترکیب، در قالب یک طرح کاملاً تصادفی مورد واکاوی آماری قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد در شرایط آزمایشگاه *A. kiliense* فاقد اثر بازدارندگی روی *V. dahliae* است، اما در تیمارهایی که با *A. kiliense* و *V. dahliae* مایه‌زنی شده بودند در مقایسه با تیمارهایی که با *V. dahliae* به تنهایی مایه‌زنی شده بودند، میزان وزن خشک ریشه و وزن خشک شاخساره افزایش یافت. برهمکنش *V. dahliae-A. kiliense* سبب کاهش درصد آلودگی شاخساره و ریشه نسبت به تیمار *V. dahliae* به تنهایی شد. درصد جداسازی *V. dahliae* از تیمارهای مختلف نشان داد، در ارقامی که با *A. kiliense* و *V. dahliae* مایه‌زنیَ شده بودند، درصد جداسازی *V. dahliae* در مقایسه با ارقامی که با *V. dahliae* به تنهایی مایه‌زنی شده بود کاهش داشته است. نتایج حاصل از گروه‌بندی آماری تیمارهای قارچی در مورد وزن خشک شاخساره بیانگر این بود که ارقام مایه‌زنی شده با *A. kiliense*، *A. kiliense* همراه با *V. dahliae* و نمونه شاهد در یک گروه قرار می‌گیرند، در حالی که ارقام مایه‌زنی شده با *V. dahliae* در گروهی مجزا قرار می‌گیرند. نتایج حاصل از جداسازی ورتیسیلیوم از بافت‌ها نشان داد که در تمام ارقام، میزان جداسازی *V. dahliae* در تیمار برهمکنش *V. dahliae -A. kiliense* نسبت به تیمار *V. dahliae* به تنهایی بیش از ۵۰ درصد کاهش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: پژمردگی ورتیسیلیومی پسته، *Verticillium dahliae*، *Acremonium kiliense*

---

*: بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول، ارائه شده به دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

**: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: rmostofi@shirazu.ac.ir

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استاد و دانشیار بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

مقدمه

پسته (*Pistacia vera* L.) به عنوان یکی از سودآورترین محصولات، با نام ایران درآمیخته است. سطح زیر کشت پسته در ایران بیش از ۳۵۰,۰۰۰ هکتار است و ایران به عنوان اولین تولید کننده پسته در جهان محصولی در حدود ۴۴۷,۰۰۰ تن در سال تولید می‌نماید (FAOSTAT 2012). تاکنون عوامل بیماری‌زای بسیاری مانند پوسیدگی فیتوفتورایی، نماتود ریشه گرهی، لکه برگی، خشکیدگی سرشاخه و پژمردگی ورتیسیلیومی از قسمت‌های مختلف درختان پسته گزارش شده است (Teviotdale *et al*. 1993). پراکنش این بیماری در مقایسه با انگومک کمتر بوده و با توجه به ماهیتِ عامل آن، شرایط برای گسترش بیماری و اپیدمی شدن آن در مقایسه با انگومک بسیار کمتر است. با این حال لازم است که به منظور شناسایی و معرفی پایه‌های مناسب، در برنامه‌ریزی بلند مدت این بیماری نیز مورد توجه قرار گیرد. این بیماری برخلاف انگومک، درختان پسته را در مدت زمان کوتاهی از بین نمی‌برد، و تاکنون تنها راه کنترلِ مؤثر این بیماری استفاده از ارقام مقاوم بوده است (Raabe & Wilhelm 1978; Schnathorst 1988).

در مورد پژمردگی ورتیسیلیومی پسته در ایران، مطالعات انجام گرفته در حد شناسایی عامل بیماری، تعیین پراکنش آن، تأثیر شوری و خشکی روی بیماری در دو یا سه پایه و ارزیابی مقاومت ارقام محلی به عامل بیماری بوده (Mohammadi *et al*. 2007; Saadatmand *et al*. 2008) و تاکنون مطالعه‌ای در مورد برهمکنش درون‌رُست‌ها و بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی پسته صورت نگرفته است. بررسی‌ها نشان داده که برهمکنش قارچ درون‌رُستِ *Acremonium kiliense* با *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* موجب کاهش علائم بیماری پژمردگی گوجه فرنگی می‌شود (Bargmann & Schoenbeck 1992). از طرف دیگر همزمان با جداسازی ورتیسیلیوم از بافت‌های آلوده، *A. kiliense* نیز جدا می‌شود (بنی هاشمی، منتشر نشده)؛ بر اساس این شواهد، هدف از مطالعه حاضر، ارزیابی برهمکنش *A. kiliense* و *V. dahliae*، عامل بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی پسته، در درون آوندهای گیاه میزبان و آثار آن روی شاخص‌های رشدی میزبان در نظر گرفته شده است.

مواد و روش‌ها

جدایه‌ها و ارقام

در این پژوهش از جدایه‌های برگ‌ریز *V. dahliae* (VD1382) (Mohammadi *et al*. 2007) و *A. kiliense* (AK1382) جدا شده از آوند پسته (بنی‌هاشمی، اطلاعات منتشر نشده، ۱۳۸۲) در کلکسیون بخش گیاه‌پزشکی دانشگاه شیراز استفاده شد. هم‌چنین ارقام پسته مانند سرخس، بادامی ریز زرند و قزوینی مورد استفاده قرار گرفت.

کشت بذر و تولید دانهال

پس از جداکردن پوست سخت و شاخی پسته (اندوکارپ)، بذرها در محلول هیپوکلریت سدیم نیم درصد ضدعفونی سطحی و در آب مقطر شسته شدند. بذرها به ظرف‌های شیشه‌ای سترون حاوی آب مقطر سترون و آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین (۰/۵ گرم در لیتر)، آمپی‌سیلین (۰/۵ گرم در لیتر) و ریفامپین (۰/۵ گرم در لیتر) انتقال داده و به مدت ۲۴ ساعت در این محلول خیسانده شد. سپس بذرها با پنتاکلرونیتروبنزن (PCNB) و بنومیل (Benlate, 50% WP) هریک به میزان چهار در

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

هزار ضدعفونی شدند. بذرها در سینی‌های سترون در بین دو لایه پارچه سترون و مرطوب در ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شدند (Hadizadeh 2002). بعد از گذشت یک هفته، بذرهای جوانه زده به گلدان‌های کوچک حاوی خاک بکر شنی- لومی سترون انتقال داده شدند.

تهیه مایه *A. kiliense*

سطح پرگنه‌های ۲۰ روزه *A. kiliense* خراشیده و در بشر به آن آب مقطر سترون اضافه شد. برای حذف ریسه‌ها و ناخالصی‌ها، سوسپانسیون از صافی پارچه‌ای رد شد. رقت سوسپانسیون حاصل توسط هموسیتومتر محاسبه و به 10^6 کنیدیوم در میلی‌لیتر رسانده شد.

مایه‌زنی دانهال‌ها با *A. kiliense*

به منظور مایه‌زنی دانهال‌ها از سوسپانسیونِ کنیدیوم‌های *A. kiliense* با رقت 10^6 (کنیدیوم در میلی‌لیتر) استفاده شد. گلدان‌های حاوی دانهال‌های ۸ماهه، شکسته و خاک اطراف ریشه جدا گردید، به صورتی که به ریشه‌ها آسیب وارد نشود. سپس ریشه‌ها در سوسپانسیونِ کنیدیوم قرار داده شد و بعد از چند ثانیه دانهال‌ها، به گلدان جدیدِ حاوی خاک بکر منتقل شد.

تهیه مایه *V. dahliae*

برای تهیه میکرواسکلروت ورتیسیلیوم از روش *هال و لی* (Hall & Ly 1972) که *هادی‌زاده* (Hadizadeh 2002) تغییراتی در آن اعمال نمود، استفاده شد. ده لیتر محیط کشت مخصوص تولید میکرواسکلروت تهیه و در پنج تشتک پلاستیکی ۱۰ لیتری، هرکدام دو لیتر، ریخته شد. درب تشتک‌ها با ورقه‌های آلومینیومی پوشانده شد. سپس تشتک‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد سترون شدند. از حاشیه پرگنه‌های ۱۰ روزه در محیط کشتِ KDA (۰/۶ گرم در لیتر دکستروز، ۲گرم در لیتر نیترات پتاسیم، ۱۶ گرم در لیتر آگار، ۱ لیتر آب مقطر) بلوک‌هایی به قطر یک سانتی‌متر به تشتک‌های حاوی محیط مایع منتقل شد. تشتک‌ها حدود ۸-۱۰ هفته در دمای اتاق (۲۲- ۲۵ درجه سانتی‌گراد) بدون تکان خوردن در تاریکی نگهداری شدند. برای حصول اطمینان از آلوده نبودن تشتک‌ها، گه‌گاه توسط یک پیپت سترون مقداری از محتویات تشتک، بیرون آورده شد و در زیر میکروسکوپ دیده شد تا در صورت آلودگی تشتک آلوده حذف شود. پس از سپری شدن ۸-۱۰ هفته، میکرواسکلروت‌های موجود در تشتک با دستگاه مکش و قیف بوخنر استخراج شد. میکرواسکلروت‌ها در تشتک پتری قرار داده شده و به مدت ۱۵ روز در ۳۰ درجه سانتی‌گراد، در انکوباتور نگهداری شدند تا ریسه‌ها حذف و توده میکرواسکلروت خشک شود. پس از این مرحله، توده میکرواسکلروتی خشک در زیر هود، توسط هاون خرد و نرم گردید و پودر حاصل، در ظروف شیشه‌ای تیره در دمای اتاق نگهداری شد. به منظور تعیین قوه نامیه میکرواسکلروت‌ها، پودر میکرواسکلروت‌ها در محیط کشت آب الکل آگار کشت داده شد و بعد از گذشت یک تا دو روز میکرواسکلروت‌های جوانه‌زده به کمک میکروسکوپ نوری شمارش شده، با توجه تعداد میکرواسکلروت‌ها، میکرواسکلروت‌های جوانه‌زده و میکرواسکلروت‌های جوانه نزده، درصد جوانه‌زنی میکرواسکلروت‌ها تعیین شد.

مایه‌زنی دانهال‌ها با *V. dahliae*

به منظور مایه‌زنی دانهال‌ها با *V. dahliae*، از دانهال‌های نه ماهه پسته که یک ماه از مایه‌زنی آنها با *A. kiliense*

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

گذشته بود استفاده شد. این دانهال‌ها به خاکِ حاوی ۴۰ میکرواسکلروت (قوه نامیه:۸۲ درصد) در هر گرم خاک انتقال داده شدند (Hadizadeh 2002; Mohammadi 2000).

در یک چهارم از گلدان‌های چهار کیلویی، خاک حاوی میکرواسکلروت (۴۰ گرم میکرواسکلروت در گرم خاک) ریخته و گلدان‌های کوچک حاوی دانهال‌ها را برش داده به گونه‌ای که ریشه‌ها آسیب نبینند و خاک اطراف ریشه حفظ شود. سپس دانهال‌ها را به گلدان‌های چهارکیلویی انتقال داده و اطراف آن را خاک حاوی ۴۰ میکرواسکلروت در گرم ریخته، به گونه‌ای که تمام سطح گلدان را خاک حاوی میکرواسکلروت فراگیرد (Hadizadeh 2002; Mohammadi 2000).

تعیین برهمکنش *V. dahliae-A. kiliense* در شرایط درون‌زیوه‌ای

برای تعیین برهمکنش *V. dahliae-A. kiliense* در شرایط درون‌زیوه‌ای (*in vivo*)، سه ماه پس از مایه‌زنی نهال‌های نه ماهه‌ی پسته با *V. dahliae*، ویژگی‌هایی مانند وزن خشک شاخساره، وزن خشک ریشه و درصد جداسازی *V. dahliae* و *A. kiliense* از ریشه، ساقه و طوقه اندازه‌گیری شد.

به منظور تعیین درصد جداسازی قارچ‌های مذکور از بافت گیاهان آلوده، از هر تیمار سه گیاه از خاک خارج و شستشو داده شد تا ذرات خاک از بافت جدا شود. بخش‌های مورد نظر جدا و هر کدام در یک ارلن حاوی آب مقطر انداخته شد و برای جدا شدن ذرات از سطح ریشه ارلن‌ها به مدت یک ساعت روی شیکر با سرعت ۴۰ دور در دقیقه گذاشته شد. بافت‌ها به وسیله قیچی در زیر هود لامینار به قطعات مساوی نیم سانتی‌متری تقسیم و روی محیط کشت PDA حاوی ۰/۰۵ گرم ریفامپین و ۰/۱ گرم آمپی‌سیلین قرار داده شد. بعد از چند روز قارچ‌های خارج شده از بافت، توسط میکروسکوپ نوری مشاهده و درصد بافت‌های حاوی قارچ مورد نظر محاسبه شد.

این آزمایش در قالب آزمایش فاکتوریل با دو فاکتورِ ارقام گیاه و تیمارهای قارچی بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در هر واحد آزمایشی انجام شد. فاکتور اول، گیاه با سه سطحِ سرخس، بادامی و قزوینی و فاکتور دوم، تیمارهای قارچی با چهار سطحِ *A. kiliense*، *V. dahliae*، *A. kiliense* –*V. dahliae* و شاهد بود.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار MSTAT-C Version 1.42 (Michigan State University, UAA) استفاده شد. آزمون نرمال بودن داده‌ها توسط نرم‌افزار MINITAB Version 14.12 (Minitab Company, USA) انجام و برای تبدیل داده‌ها از فرمول تبدیلِ زاویه‌ای (آرک سینوس) استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال یک و پنج درصد انجام شد.

تعیین برهمکنش *V. dahliae-A. kiliense* در شرایط آزمایشگاه

به منظور تعیین برهمکنش *V. dahliae-A. kiliense* در شرایط آزمایشگاه از محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار حاوی ۰/۰۵ گرم ریفامپین و ۰/۱ گرم آمپی‌سیلین استفاده شد. قطعات پنج میلی‌متری از حاشیه پرگنه فعالِ قارچ‌های مورد نظر، به فاصله یک سانتی‌متر از یک‌دیگر در محیط کشت مذکور قرار داده شد و بعد از ۱۰ روز، برهمکنش دو قارچ به صورت ماکروسکوپی و میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفت.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

نتایج و بحث

در گیاهانی که با *V. dahliae* مایه زنی شده بودند، ۸۰ روز پس از مایه‌زنی، برگ‌ها شروع به ریزش کردند، در حالی که گیاهان شاهد و گیاهانی که با *A. kiliense* مایه‌زنی شده بودند، پس از گذشت سه ماه از مایه‌زنی، علائم ریزش برگ‌ها دیده نشد. در ضمن در گیاهانی که با *V. dahliae-A. kiliense* مایه‌زنی شده بودند مشابه گیاهانی که به تنهایی با *A. kiliense* مایه‌زنی شده بودند و گیاهان شاهد، علائم ریزش برگ‌ها دیده نشد.

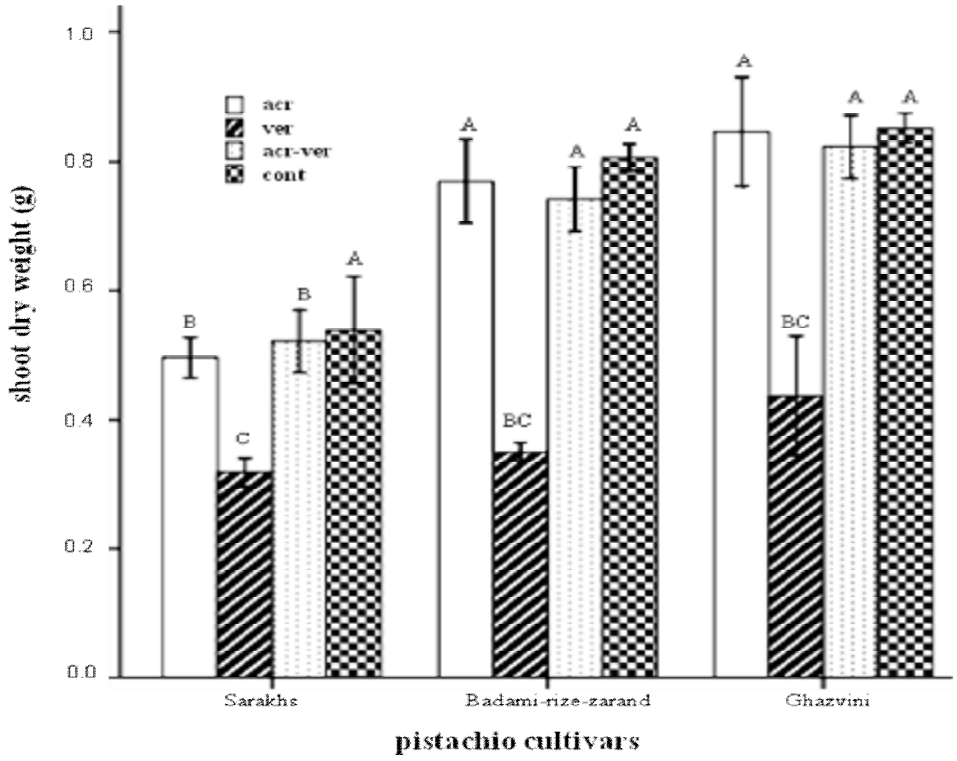
نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای *A. kiliense*، *V. dahliae*، برهمکنش *V. dahliae-A. kiliense* و شاهد روی وزن خشک شاخساره سه رقم سرخس، بادامی ریز زرند و قزوینی بعد از گذشت ۱۲ ماه در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد در تمام ارقام بین مقدار وزن خشک شاخساره در تیمارهای *A. kiliense*، *V. dahliae-A. kiliense* و نمونه شاهد اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود ندارد، در حالی که بین وزن خشک شاخساره در تیماری که با *V. dahliae* مایه‌زنی شده بود با سایر تیمارها در تمام ارقام، اختلاف معنی‌داری وجود داشت. درصد کاهش وزن خشک شاخساره در تیمار *V. dahliae* به تنهایی نسبت به تیمار برهمکنش *V. dahliae-A. kiliense* در رقم سرخس حدود ۴۰ درصد، در حالی که در رقم قزوینی حدود ۴۹ درصد بود. نتایج حاصل و مقایسه تیمارهای مختلف، بیانگر این است که *A. kiliense* قادر است از کاهش وزن خشک شاخساره جلوگیری کند، به عبارتی اثر *A. kiliense* در جلوگیری از کاهش وزن خشک شاخساره ملاکی برای مؤثر دانستن قارچ درون‌رُستِ *A. kiliense* در کاهش علائم ناشی از *V. dahliae* است، به عبارتی قارچ درون‌رُستِ *A. kiliense* مانند قارچ‌های درون‌رُست دیگر نظیر *Piriformospora indica*، *Claviceps* spp.، *Neotyphodium* spp.، *Talaromyces flavus* و *Acremonium strictum* در کاهش علائم ناشی از عوامل بیماری‌زا مؤثر است (Gao *et al*. 2010).

نتایج مربوط به تأثیر تیمارهای *A. kiliense*، *V. dahliae*، برهمکنش *V. dahliae-A. kiliense* و شاهد روی وزن خشک ریشه سه رقم سرخس، بادامی ریز زرند و قزوینی در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج حاصل از وزن خشک ریشه نشان می‌دهد، در هر سه رقمِ سرخس، بادامی ریز زرند و قزوینی، *V. dahliae* منجر به کاهش وزن خشک ریشه در مقایسه با شاهد شده است.

از نظر وزن خشک ریشه، بین عملکرد ارقام مختلف اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود داشت. هم‌چنین بین اثر تیمارهای مختلف نیز اختلاف معنی‌داری وجود داشت، به صورتی که در تمام ارقام کمترین وزن خشک ریشه مربوط به تیمار *V. dahliae* بود. بین ارقام مورد آزمایش، در رقم قزوینی وزن خشک ریشه در تیمار *V. dahliae* نسبت به تیمار برهمکنش *V. dahliae-A. kiliense* کاهش بیشتری داشته است به این صورت که بین ارقام مورد آزمایش، درصد کاهش وزن خشک ریشه در تیمار *V. dahliae* نسبت به تیمار برهمکنش *V. dahliae-A. kiliense* در رقم سرخس ۷۲ درصد و در رقم قزوینی ۷۳ درصد بود.

طبق نتایج به‌دست آمده، درصد جداسازی *V. dahliae* از ساقه، در تیماری که با *V. dahliae-A. kiliense* مایه‌زنی شده در مقایسه با تیماری که تنها با *V. dahliae* مایه‌زنی شده، کاهش یافته و از نظر آماری، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بین میزان جداسازی *V. dahliae* در این دو تیمار وجود داشت

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

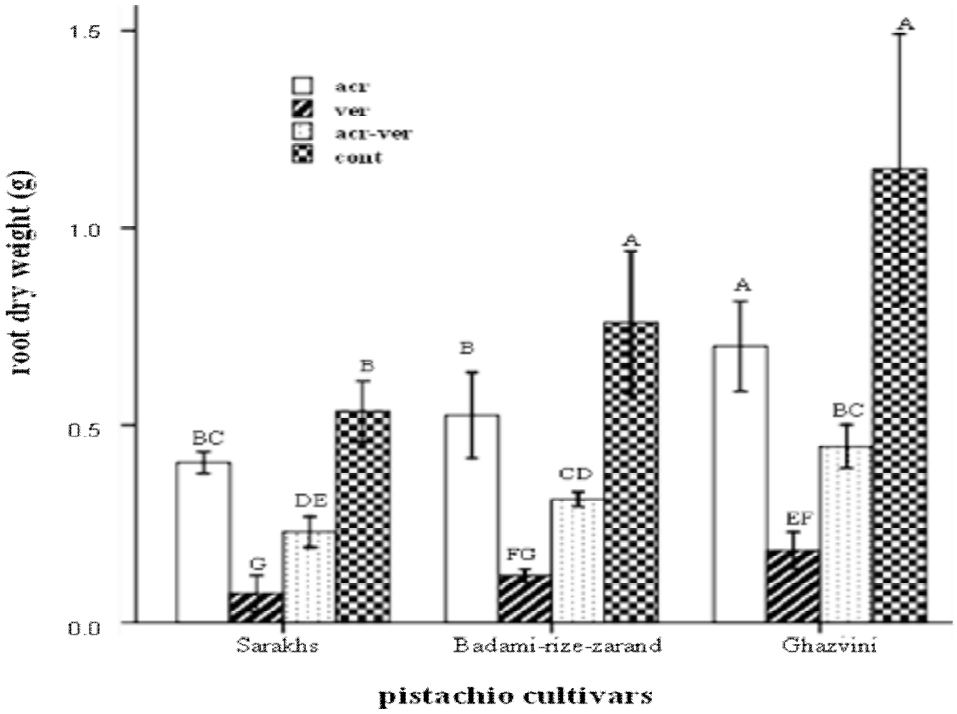


شکل۱. تأثیر تیمارهای مختلف (مایه‌زنی با *Acremonium kiliense*، *Verticillium dahliae*، *A. kiliense-V. dahliae* و شاهد) روی وزن خشک شاخساره دانهال‌های ۱۲ ماهه ارقام مختلف پسته. acr= مایه‌زنی شده با *A. kiliense* ، ver= مایه‌زنی شده با *V. dahliae*، acr-ver= برهمکنش *A. kiliense-V. dahliae*، cont= شاهد.

Fig. 1. Effect of different treatments (inoculation with *Acremonium kiliense, Verticillium dahliae, A. kiliense-V. dahliae* and controls) on shoot dry weight of 12-month seedlings of pistachio cultivars. acr= inoculation with *A. kiliense*, ver= inoculation with *V. dahliae*, acre-ver= interaction of *A. kiliense-V. dahliae*, cont= control.

(شکل ۳). نتایج جداسازی *V. dahliae* از ریشه و طوقه نیز مشابه نتایج جداسازی *V. dahliae* از ساقه بود (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). طبق نتایج به‌دست آمده، در هر سه رقمِ مورد آزمایش (سرخس، بادامی ریز زرند و قزوینی) درصد جداسازی *V. dahliae* از ریشه در تیماری که با *V. dahliae-A. kiliense* مایه‌زنی شده در مقایسه با تیماری که تنها با *V. dahliae* مایه‌زنی شده، کاهش یافته و از نظر آماری، اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد بین میزان جداسازی *V. dahliae* در این دو تیمار وجود داشت. بیشترین میزان جداسازی *V. dahliae* مربوط به رقم سرخس بود. بین میزان جداسازی *V. dahliae* از ریشه، طوقه و ساقه رقم سرخس و میزان جداسازی *V. dahliae* از ریشه، طوقه و ساقه رقم قزوینی اختلاف معنی‌داری وجود داشت و رقم بادامی ریز زرند حد واسط این دو رقم بود. نتایج حاصل از جداسازی ورتیسیلیوم از بافت‌های طوقه، ساقه و ریشه نشان داد، در رقم سرخس تیمارِ برهمکنشِ *V. dahliae-A. kiliense*، میزان جداسازی ورتیسیلیوم ۴۱/۶۶ درصد کمتر از تیماری بود که با *V. dahliae* به تنهایی مایه‌زنی شده بود در حالی که در رقم قزوینی، کاهش درصد جداسازی ورتیسیلیوم

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



شکل۲. تأثیر تیمارهای مختلف (مایه‌زنی با *Acremonium kiliense*، *Verticillium dahliae*، *V. dahliae-A. kiliense* و شاهد) روی وزن خشک ریشه دانهال‌های ۱۲ ماهه ارقام مختلف پسته. acr = مایه‌زنی شده با *A. kiliense*، ver= مایه‌زنی شده با *V. dahliae*، acr-ver= برهمکنش *V. dahliae - A. kiliense*، cont= شاهد.

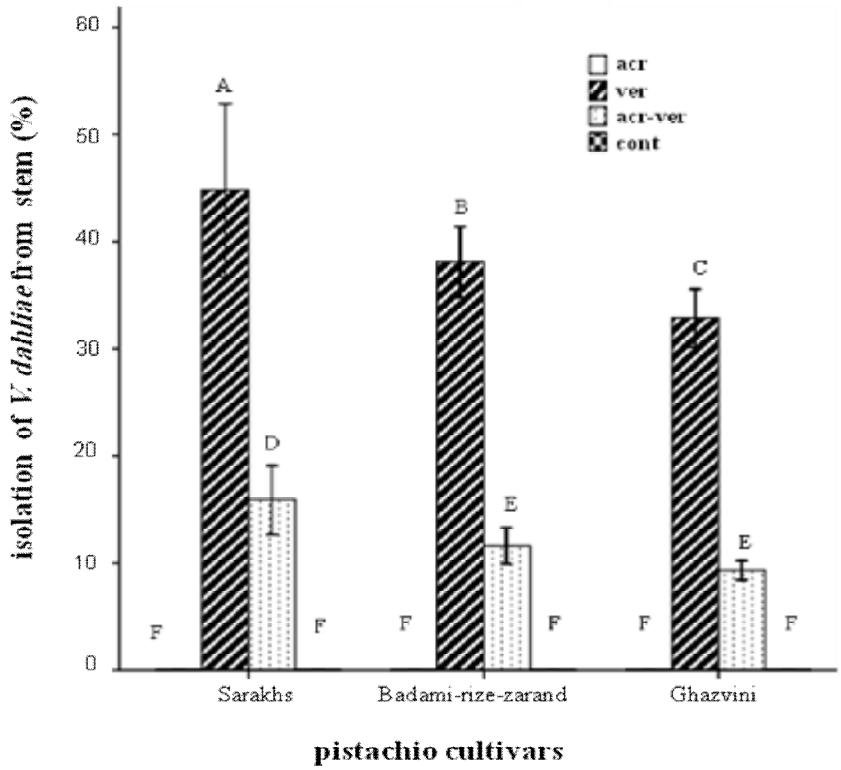
Fig. 2. Effect of different treatments (inoculation with *Acremonium kiliense, Verticillium dahliae, A. kiliense-V. dahliae* and controls) on root dry weight of 12-month seedlings of pistachio cultivars. acr= inoculation with *A. kiliense*, ver= inoculation with *V. dahliae*, acr-ver= interaction of *A. kiliense-V. dahliae*, cont= contro

در تیمارِ برهمکنشِ *V. dahliae-A. kiliense* نسبت به تیمار *V. dahliae*، ۳۶ درصد بود.

در این پژوهش، با تعیین درصد جداسازی *V. dahliae* از بافت ریشه، ساقه و طوقه، میزان حساسیت ارقام به *V. dahliae* سنجیده شد. نتایج آماریِ حاصل از این پژوهش نشان داد، رقم سرخس بیشترین میزان آلودگی را دارد و نسبت به سایر ارقام حساس‌تر است. در ضمن درصد آلودگیِ ریشه، ساقه و طوقه، میان رقم‌های بادامی ریز زرند و قزوینی اختلاف معنی‌داری وجود ندارد اما آلودگیِ بافت‌ها در رقم‌های بادامی ریز زرند و قزوینی در مقایسه با آلودگی بافت‌های رقم سرخس اختلاف معنی‌داری وجود دارد؛ در حالی که محمدی (Mohammadi 2000) نشان داد که در مقایسه درصد آلودگی شاخساره، میان سه رقم اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

تعیین حساسیت ارقام، به انتخاب پایه مناسب در زمان احداث باغ پسته کمک می‌کند. ارقام بادامی ریز زرند، قزوینی و سرخس از پایه‌های شناخته شده پسته در ایران می‌باشند. در پژوهش حاضر، رقم قزوینی بیشترین میزان تحمل به *V. dahliae* را درمیان پایه‌های مورد بررسی نشان داد و بعد از رقم قزوینی، رقم بادامی ریز زرند قرار داشت. در ضمن پایه‌های بادامی ریز زرند و قزوینی،

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



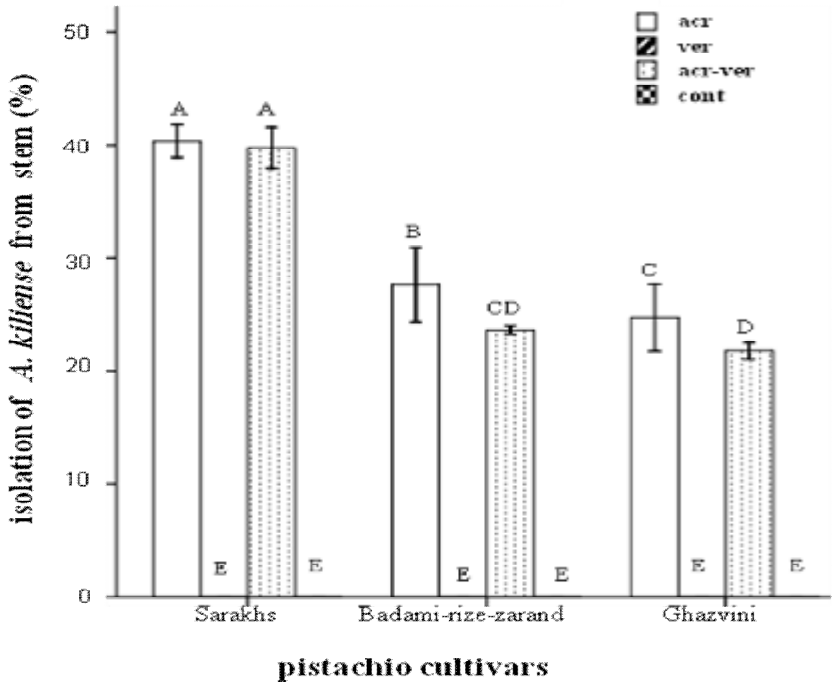
شکل ۳. درصد جداسازیِ *Verticillium dahliae* بعد از گذشت سه ماه از مایه‌زنی، از ساقه دانهال‌های ۱۲ ماهه ارقام مختلف پسته در تیمارهای مختلف (مایه‌زنی با *Acremonium kiliense*، *V. dahliae*، *V. dahliae-A. kiliense* و شاهد) acr = مایه‌زنی شده با *A. kiliense*، ver= مایه‌زنی شده با *V. dahliae*، acr-ver= برهمکنش *V. dahliae-A. kiliense*، cont= شاهد.

Fig. 3. Percentage of *Verticillium dahliae* isolated from the stems of the 12-month-old seedlings of pistachio cultivars 3 months after inoculation in different treatments (inoculation with *Acremonium kiliense, V. dahliae, A. kiliense-V. dahliae* and controls) acr= inoculation with *A. kiliense,* ver= inoculation with *V. dahliae,* acr-ver= interaction of *A. kiliense-V. dahliae,* cont= control

علاوه بر این‌که در برابر *V. dahliae* متحمل هستند، در برابر شوری نیز مقاومت بالایی دارند (Mohammadi 2000; Saadatmand *et al*. 2007; Sepaskhah & Maftoun 1998) و در برابر گونه‌های فیتوفتورا نیز متحمل هستند (Banihashemi 1998)، بنابراین ارقام مذکور می‌توانند انتخاب مناسبی برای کشت در مناطق پسته‌کاری باشند.

با استناد به نتایج حاصل از پژوهش حاضر، از نظر میزان حضور *A. kiliense* در بافت‌های گیاه ، بیشترین درصد جداسازی مربوط به رقم سرخس و بعد از آن رقم بادامی ریز زرند و در نهایت مربوط به رقم قزوینی بود (شکل ۴). بنابراین رقم سرخس علاوه بر این‌که در واکنش با قارچ بیمارگرِ *V. dahliae* در گروه ارقام حساس قرار می‌گیرد (Mohammadi 2000)، در واکنش به قارچ درون‌رُست *A. kiliense* نیز در مقایسه با سایر ارقام، حساس‌تر بوده و *A. kiliense* به مقدار بیشتری از بافت‌های رقم سرخس جدا شد. بنابراین می‌توان چنین برداشت نمود که *A. kiliense* قادر است بافت‌های رقم سرخس را بیشتر از بافت‌های سایر ارقام کلونیزه کند.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com



شکل۴. درصد جداسازیِ *Acremonium kiliense* بعد از گذشت چهار ماه از مایه‌زنی، از ساقه دانهال‌های ۱۲ ماهه ارقام مختلف پسته در تیمارهای مختلف (مایه‌زنی با *Acremonium kiliense*، *Verticillium dahliae*، *V. dahliae-A. kiliense* و شاهد). acr= مایه‌زنی شده با *A. kiliense* ، ver= مایه‌زنی شده با *V. dahliae*، acr-ver= برهمکنش *V. dahliae-A. kiliense*، cont= شاهد.

Fig. 4. Percentage of *Acremonium kiliense* isolated from the stems of the 12-month-old seedlings of pistachio cultivars 4 months after inoculation in different treatments (inoculation with *Acremonium kiliense, V. dahliae, A. kiliense-V. dahliae* and controls) acr= inoculation with *A. kiliense,* ver= inoculation with *V. dahliae,* acr-ver= interaction of *A. kiliense-V. dahliae,* cont= control.

درحالی که *A. kiliense* با درصد کمتری از بافتِ رقم قزوینی جدا شده، به عبارتی رقم قزوینی به نفوذ و گسترش *A. kiliense* در بافت‌ها مقاومت نشان داده است. با توجه به کاهش ۴۱/۶۶ درصدی جداسازی ورتیسیلیوم در تیمار برهمکنشِ *V. dahliae-A. kiliense* نسبت به تیمار *V. dahliae* به تنهایی در رقم سرخس و با توجه به این‌که کاهش جداسازی ورتیسیلیوم در رقم قزوینی و رقم بادامی ریز زرند که بین ۳۵-۳۶ درصد بود می‌توان چنین استنباط نمود که حضور *A. kiliense* در کاهش بیماری در رقم سرخس نسبت به سایر ارقام مؤثرتر بوده است. طبق مطالعات *مورگان و همکاران* (Morgan *et al.* 1992)، سرعت انتشار کنیدیوم‌های *V. dahliae* در ارقام حساس بیشتر از ارقام مقاوم می‌باشد، به عبارتی این احتمال وجود دارد که استفاده از قارچ درون‌رُست *A. kiliense* سرعت انتشار کنیدیوم‌های *V. dahliae* را کاهش داده باشد.

گونه‌های متفاوت از قارچ‌های درون‌رُست در گیاه میزبان، سازوکارهای متفاوتی در برابر بیمارگرها از خود نشان می‌دهند (Gao *et al.* 2010). برخی از قارچ‌های درون‌رُست، اثرات مستقیم و برخی اثرات غیر مستقیم

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

دارند. از اثرات مستقیم می‌توان به تولید آنتی‌بیوتیک (Atmosukarto *et al*. 2005; Gunatilaka 2006; Hellwig *et al*. 2002; Silva *et al*. 2006) و تولید آنزیم‌های لیتیک اشاره نمود (Fukuda & Shinshi 1994; Macagnan *et al*. 2008; Tripathi *et al*. 2008). تولید عصاره‌های فرار و غیر فرار نیز از اثرات مستقیم به‌شمار می‌رود(Eltarabily *et al*. 2000; Nagtazaam & Bollen 1997; Whipps 2001). روش مشترک جهت تعیین برهمکنش یک قارچ درون‌رُست با یک قارچ بیمارگر، کشت همزمانِ بیمارگر و قارچ درون‌رُست است (Gao *et al*. 2010). در این پژوهش از کشتِ همزمانِ بیمارگر و قارچ درون‌رُست در یک تشتک پتری استفاده شد. وجود اثر مستقیم بین *A. kiliense* و *V. dahliae* به صورت کامل رد شد، چرا که بعد از گذشت دو هفته از کشت این دو قارچ در تشتک پتری، ریسه‌های هر دو قارچ بدون هیچ اثر بازدارندگی در کنار یکدیگر رشد کرده و در محیط کشت، هیچ نشانه‌ای مبنی بر تولید آنتی‌بیوتیک یا آنزیم توسط قارچ درون‌رُستِ *A. kiliense* مشاهده نشد.

این پژوهش با هدف دستیابی به شیوه‌ای سازگار با محیط زیست برای مدیریت بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی صورت گرفت و نتایج حاصل نشان داد مایه‌زنی دانهال‌ها با *A. kiliense* منجر به کاهش علائم بیماری در شرایط گلخانه می‌شود و در بین ارقام مورد آزمایش، تأثیر *A. kiliense* در رقم سرخس بیشتر از سایر ارقام بود. از طرف دیگر حساسیت رقم سرخس نسبت به بیماری‌های ورتیسیلیومی و فیتوفتورایی امکان استفاده از آن را به عنوان پایه‌ای مناسب محدود می‌سازد. از آنجا که رقم قزوینی نسبت به بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه فیتوفتورایی مقاومت نسبی دارد (Banihashemi 1998) و هم‌چنین مایه‌زنی دانهال‌های آن با *A. kiliense* منجر به کاهش علائم پژمردگی ورتیسیلیومی می‌گردد، بررسی اثرات جدایه‌های این قارچ در شرایط باغ می‌تواند رهگشا باشد.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (129-127) متن انگلیسی مراجعه شود.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com