The University of Tehran Press

Iranian Journal of Plant Protection Science

Online ISNN: 2008-4781

Homepage: http://ijpps.ut.ac.ir/

Synergistic effect of *Mesocriconema xenoplax* in the creation of bacterial canker of peach by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

Naser Amanifar [1]✉

1 Department of Plant Protection Research, Charmahal va Bakhtiary Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Shahrekord, Iran. E-mail: sahragardn@yahoo.com

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 7 February 2023

Revised: 25 July 2023

Accepted: 20 August 2023

Published online: 18 September 2023

Keywords:

Canker,

Interaction,

Peach,

Rootstock.

ABSTRACT

Bacterial canker of stone fruit trees caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss) interacts with several factors such as ring nematodes. The effect of infection of *Mesocriconema xenoplax* (Mx) and Pss and co-infection in pot conditions in the greenhouse on peach bacterial canker was investigated on GN and GF677 rootstocks, tolerant and susceptible to Mx, respectively. One-year peach seedlings (cv. Zaafarani), susceptible to Pss, grafted on these rootstocks were used. Infection treatments included nematode inoculation, bacterial inoculation, and inoculation with both pathogens. The experiment was conducted as a factorial in a completely randomized design with five replications. The results were evaluated and compared statistically based on disease severity, bud death, seedling height, root weight, total plant weight, and population of Mx in soil. The results showed a significant difference between GN and GF677 in terms of response to pathogen inoculation (s) based on evaluation indexes. In both vegetative rootstocks, canker severity and dead bud in seedlings co-inoculated with Mx and Pss were more than those only inoculated with Pss alone. In seedlings with GF677 rootstock, in infection with both pathogens, the rate of canker progression up to about 30 cm was measured and dieback was observed. In inoculation with only Mx and Pss, there was a significant difference in plant growth indexes (in both treatments) and nematode population and disease severity between the two rootstocks for inoculation with nematode and bacteria. Therefore, it can be concluded that Mx is a synergistic factor for peach trees (especially at a susceptible rootstock) to aggravate bacterial canker disease caused by Pss.

Cite this article: Amanifar, N. (2023). Synergistic effect of *Mesocriconema xenoplax* in the creation of bacterial canker of peach by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 54 (1), 47-58. DOI: http//doi.org/10.22059/IJPPS.2023.354890.1007020

© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.

DOI: http//doi.org/ 10.22059/IJPPS.2023.354890.1007020

Extended Abstract

Introduction

The high population of ring nematode (*Mesocriconema xenoplax* (Mx)) is one of the possible live factors as a predisposing of bacterial canker of peach in sandy soils. In peach trees inoculated with ring nematodes, sensitivity to *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss) increases with increasing canker length. Susceptibility to bacterial canker has also been observed in prunes and almonds infected with ring nematodes. However, the mechanism by which the presence of ring nematodes causes stress on stone fruit trees and is susceptible to bacterial canker is not known. The type of rootstock has a significant effect on the amount and severity of bacterial canker in stone fruit trees. The rootstock's role in the reaction of living and non-living factors in the soil such as soil acidity, soil texture, and ring nematodes soil affects the occurrence and severity of bacterial canker disease.

Materials and Methods

In this study, the effect of co-infection of Mx and Pss in pot conditions on peach bacterial canker was investigated on GN and GF677 rootstocks, tolerant and susceptible to Mx, respectively. One-year peach

seedlings (cv. Zaafarani), susceptible to Pss, grafted on these rootstocks were used. Infection treatments included three groups' nematode inoculation, bacterial inoculation, and inoculation with both pathogens. The results were evaluated and compared statistically based on disease severity, bud death, seedling height, root weight, total plant weight, and population of Mx per cm3 of soil.

Results and Discussion

The results showed a significant difference between GN and GF677 in terms of response to pathogen(s) inoculation based on evaluation indexes. In both vegetative rootstocks, canker severity and dead bud in seedlings co-inoculated with Mx and Pss were more than those only inoculated with Pss alone. In seedlings with GF677 rootstock, in infection with both pathogens, the rate of canker progression up to about 30 cm was measured and dieback was observed. Therefore, it can be said that Mx is a synergistic factor for peach trees (especially at a susceptible rootstock) to aggravate bacterial canker disease caused by Pss. Field studies in Chaharmahal and Bakhtiary province showed that in almond and peach orchards replanted with GN rootstock, the vegetative growth of trees is higher and canker disease is lower than trees with GF677rootstock. In this study, in pot conditions, growth indexes in GN (nematode-resistant) rootstock inoculated with Mx showed a significant difference with GF677 (nematode-susceptible) rootstock. This difference was also evident in co-inoculation Mx and Pss. The short life of trees in some stone fruit species such as peach and plum has been attributed to the interaction Pss causal agent of bacterial canker and other living factors, especially Mx, and there is various evidence for the role of Mx in the short life of these plants. In this study, the severity of canker disease on peach (Zaafarani cv.) in Mx and Pss co-inoculation treatment was significantly higher in GN (high root volume) and GF677 (low root volume), compared to infected treatments with one of the above pathogens increased. Based on the results of this study, it can be said that the use of rootstocks and tolerant rootstocks such as GN to Mx is effective in the integrated management of peach bacterial canker to reduce the population of plant parasitic nematodes. Because the Mx nematode and the Pss strains that cause the canker of stone fruit trees are distributed in all regions of Iran, the results of this study can be generalized to the climatic regions of Chaharmahal and Bakhtiary province in Iran.

Conclusion

According to the results of previous studies, the frequency and population of Mx on stone fruit trees with bacterial canker symptoms in Chaharmahal and Bakhtiary province are higher than other nematodes and the most important disease and causal short life peach in these regions is canker, on the other hand, Mx nematode has been proven as a predisposing factor for bacterial canker caused by Pss, based on the results of this study, it can be said that the use of rootstocks and tolerant rootstock such as GN to Mx is effective in integrated management of peach bacterial canker to reduce the population of plant parasitic nematodes.

نشریه دانش گیاهپزشکی ایران، دوره ۵۴، شماره ۱

انتشارات دانشگاه تهران

شاپا الکترونیکی: ۷۸۶۸-۲۴۲۳

Homepage: http://ijpps.ut.ac.ir/

اثر تشدیدکنندگی *Mesocriconema xenoplax* در ایجاد شانکر باکتریایی هلو توسط *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*

ناصر امانی‌فر ✉

بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد، ایران. رایانامه: sahragardn@yahoo.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۸
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۵/۰۳
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۲۹
تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۶/۲۷

کلیدواژه‌ها:
برهمکنش، پایه‌های رویشی، شانکر، هلو.

چکیده

بیماری شانکر باکتریایی درختان میوه هسته‌دار *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (Pss) با عوامل متعددی از جمله نماتدهای حلقه‌ای برهمکنش دارد. در این تحقیق، اثر آلودگی تنها و توأم *Mesocriconema xenoplax* (Mx) و Pss، در شرایط گلخانه داخل گلدان، در ایجاد شانکر باکتریایی هلو روی پایه‌های رویشی GN و GF677، به ترتیب متحمل و حساس به Mx، مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام این آزمایش، از نهال های یک‌ساله رقم زعفرانی هلو (حساس به Pss، پیوند شده روی دو پایه فوق استفاده شد. تیمارهای آزمایش شامل مایه‌زنی با نماتد، مایه‌زنی با باکتری و مایه‌زنی توام با هر دو بیمارگر بودند. آزمایش به صورت فاکتوریل درقالب طرح کاملا تصادفی با پنج تکرار انجام شد. نتایج نشان از تفاوت معنی‌داری بین دو پایه GN و GF677، از نظر واکنش به هر یک از تیمارها بر اساس شاخص‌های فوق بود. در هر دو پایه، در آلودگی توام با Mx و Pss، شدت شانکر و مرگ جوانه بیشتر از مایه‌زنی با Pss به تنهایی بود. در آلودگی توام با هر دو بیمارگر نهال های با پایه GF677 ، میزان پیشرفت شانکر تا حدود ۳۰ سانتیمتر بود و حتی مرگ سرشاخه نیز مشاهده گردید. در مایه زنی منفرد با Mx و Pss بین دو پایه، تفاوت معنی داری به ترتیب برای جمعیت نماتد و شدت بیماری وجود داشت. بر این اساس می‌توان گفت که Mx یکی از عوامل هم‌افزایی برای تشدید بیماری شانکر باکتریایی ناشی از Pss در هلو، به ویژه در پایه حساس، می‌باشد.

استناد: امانی‌فر، ناصر (۱۴۰۲). اثر تشدیدکنندگی Mesocriconema xenoplax در ایجاد شانکر باکتریایی هلو توسط Pseudomonas syringae pv. syringae. *نشریه دانش گیاهپزشکی ایران*، ۵۴ (۱)، ۵۸-۴۷. DOI: http//doi.org/ 10.22059/IJPPS.2023.354890.1007020

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: http//doi.org/ 10.22059/IJPPS.2023.354890.1007020

مقدمه

بر اساس آمارنامه سال ۱۴۰۰ وزارت جهاد کشاورزی حدود ۵۸۰۰۰ هکتار از باغ‌های کشور، با میزان تولید ۸۳۴۰۰۰ تن، به کشت هلو (*Prunus persica* (L.) Batsch) اختصاص دارد که سهم استان چهارمحال و بختیاری از این میزان ۳۱۲۰ هکتار با تولید ۳۴۶۲۰ تن است (آمارنامه وزارت جهاد کشاورزی، ۱۴۰۰). از عوامل محدودکننده تولید این محصول آفات و بیماری‌های گیاهی است. شانکر باکتریایی یکی از این عوامل خسارت‌زاست که در مناطق سردسیر مانند استان چهارمحال و بختیاری میزان بیماری بسته به پایه، رقم، مدیریت باغ و عوامل پیش‌آمودگی از کمتر از یک درصد تا ۱۰۰ درصد متفاوت است (Amanifar, 2020).

شانکر باکتریایی ناشی از *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall (Pss) یکی از مهم‌ترین و اقتصادی‌ترین بیماری‌های درختان میوه هسته‌دار در سراسر جهان شناخته شده است که باعث خسارت و کوتاهی عمر برخی از این درختان میوه می‌شود و در تمام گونه‌های تجاری جنس *Prunus* شایع است (Wenneker *et al.*, 2012). باغ‌های درختان میوه هسته‌دار با پایه حساس، تغذیه نامناسب، خاک‌هایی با اسیدیته کم یا بافت شنی، خاک کم‌عمق و آلوده به نماتدهای انگل گیاهی به‌ویژه نماتدهای حلقه‌ای، مستعد ابتلا به بیماری شانکر باکتریایی هستند. همچنین عوامل محیطی مانند بارندگی زیاد و یخزدگی و آفتاب‌سوختگی زمستانه احتمال ابتلا به بیماری را افزایش می‌دهند (Amanifar, 2020; Wenneker *et al.*, 2012; Cao *et al.*, 2011, Sayler *et al.*, 2002;).

نماتد حلقه‌ای (*Mesocriconema xenoplax* (Raski) Loof & de Grisse [= *Criconemella xenoplax* (Raski) Luc and Raski] (*Mx*))، به خاطر ارتباطش با مجموعه عوامل کوتاهی عمر درختان هلو، یکی از مهم‌ترین نماتدهای بیمارگر هلو و سایر درختان میوه هسته‌دار است (Nyczepir *et al.*, 1997; Desaeger *et al.*, 2020). کوتاهی عمر هلو در باغ‌های واکاری شده در استان چهارمحال و بختیاری نیز به‌عنوان یک معضل مورد شکایت باغداران است که از عوامل اصلی آن می‌توان نماتدهای بیمارگر و باکتری‌های عامل شانکر را نام برد (Amanifar, 2019). افزایش حساسیت به شانکر باکتریایی در انواع آلو و بادام آلوده به نماتدهای حلقه‌ای نیز مشاهده‌شده است (Mojtahedi *et al.*, 1975; Cao *et al.*, 2006; Cao *et al.*, 2011). بااین‌وجود، سازوکاری که در آن وجود نماتدهای حلقه‌ای باعث ایجاد تنش به درختان میوه‌ی هسته‌دار و حساسیت به شانکر باکتریایی می‌شود هنوز شناخته‌نشده است (Cao *et al.*, 2006). نوع پایه در میزان و شدت شانکر باکتریایی درختان میوه هسته‌دار اثر معنی‌داری دارد. تاثیر عوامل زنده و غیرزنده‌ی خاک مانند اسیدیته خاک، بافت خاک و نماتدهای حلقوی در وقوع و شدت شانکر باکتریایی بسته به نوع پایه متفاوت است (Sayler *et al.*, 2002).

بررسی فراوانی میکروارگانیزم‌ها و بیمارگرهای گیاهی همراه با عارضه واکاری باغ‌های هلو در استان چهارمحال و بختیاری نشان داد که از حدود هفت درصد نمونه‌های ریشه و خاک تهیه‌شده از این باغ‌ها، Mx جداسازی و به‌عنوان فراوان‌ترین نماتد انگل گیاهی محسوب گردید. جمعیت این نماتد در درختان با علائم شانکر باکتریایی و آلوده به Pss چشمگیر بود به‌طوری‌که از حدود۴۸/۳ درصد از درختان هلو با عارضه واکاری هر دو بیمارگر جدا شد؛ لذا نماتد Mx و شانکر باکتریایی به‌عنوان مهم‌ترین عوامل همراه با عارضه واکاری، زوال و کوتاهی عمر درختان هلو در استان چهارمحال و بختیاری تشخیص داده شدند (Amanifar, 2019).

در این پژوهش، اثر آلودگی توأم به Mx و Pss بر شدت شانکر باکتریایی در رقم زعفرانی هلو روی دو پایه حساس و متحمل منتخب از آزمایش ارزیابی مقاومت پایه‌های رویشی و ژنوتیپ‌های بادام و هلو به Mx (Amanifar, 2021) در شرایط گلدان (گلخانه) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه مایه تلقیح بیمارگر

۱- نماتد : چون در استان چهارمحال و بختیاری، Mx به‌عنوان گونه غالب نماتد همراه با ریشه و یا فراریشه درختان هلو و بادام شناخته‌شده است (Amanifar, 2019) و از طرفی بر اساس سایر پژوهش‌ها نیز Mx مهم‌ترین نماتد حلقه‌ای است که با بیماری شانکر باکتریایی هسته‌داران برهمکنش دارد (Mojtahedi & Lownsbery, 1975; Vigouroux & Bussi 1998)، در این بررسی نیز از این‌گونه نماتد استفاده شد. برای تهیه مایه تلقیح اولیه از باغ‌های آلوده به این نماتد نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها برای شناسایی و تخمین جمعیت نماتدهای انگل گیاهی به بخش نماتدشناسی موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور ارسال گردید. از نمونه با کد Shko-96-11، برداشت شده از ریشه و خاک اطراف ریشه‌ی درخت هلو **(**خاک اطراف ریشه**)** با علائم شدید شانکر باکتریایی که تنها نماتد انگل گیاهی جداسازی شده از آن، گونه *Mx* با جمعیت حدود چهار عدد نماتد در سانتی‌متر مکعب خاک بود، برای استخراج نماتد جهت مایه‌زنی گلدان‌های شبدر قرمز استفاده شد. از شبدر قرمز (*Trifolium pratense*) به‌عنوان میزبان مناسب جهت تکثیر نماتد برای تولید مایه تلقیح استفاده گردید (Zehr *et al.*, 1986). بذر شبدر قرمز به مدت ۲۴ ساعت در آب خیسانده و در هشت عدد گلدان حاوی خاک بکر (عاری از هر گونه بیمارگر) کشت شد. حدود سه هفته بعد گلدان‌ها با نماتد فوق مایه‌زنی شدند. به‌طوری‌که برای هر گلدان حدود ۵۰۰ نماتد از مراحل مختلف زندگی استفاده شد. گلدان‌ها در شرایط دمایی ۵ ± ۲۷ درجه سلسیوس در گلخانه نگهداری شدند. حدود سه ماه بعد از مایه‌زنی، مایه آلودگی موردنیاز برای تلقیح گلدان‌های پایه‌های رویشی آماده شد. برای اطمینان از خاک گلدان‌های حاوی شبدر قرمز نمونه‌برداری شد و جمعیت *Mx* تخمین زده شد (Zehr *et al.*, 1986).

۲-باکتری بیماریزا: از جدایه بیماریزای *Pss* جداسازی شده از درختان هلو با کد SHAHPSS234 (کلکسیون بخش گیاه‌پزشکی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی چهارمحال و بختیاری) استفاده شد. این جدایه در محیط مایع پپتون پنج درصد تکثیر گردید (Schaad *et al.*, 2001).

۳-آماده کردن نهال‌ها و مایه‌زنی: از دو پایه رویشی GN و GF677 که در آزمایش‌های قبلی (Amanifar, 2022) به ترتیب به عنوان پایه متحمل و حساس به Mx تشخیص داده شده بودند برای این منظور استفاده شد. پایه‌های رویشی در گلدان‌های پلاستیکی کشت (هفت کیلو گرمی) و با رقم محلی زعفرانی هلوحساس به شانکر باکتریایی (داده‌های در حال انتشار نگارنده) پیوند شدند. از نهال‌های یکساله برای مایه‌زنی با نماتد و باکتری استفاده گردید.

مشخصات تیمارها: تیمارها شامل مایه‌زنی با نماتد، مایه‌زنی با باکتری و مایه‌زنی همزمان با هر دو بیمارگر (نماتد و باکتری) و شاهد (بدون مایه‌زنی) در گلدان‌های هفت کیلوگرمی (۷۰ درصد خاک شنی- رسی بعلاوه ۳۰ درصد کود حیوانی کاملا پوسیده و ضدعفونی شده) انجام گرفت. برای هر تیمار، از هر پایه پنج گلدان در نظر گرفته شد. برای تیمار با نماتد، برای هر گلدان ۷۰۰ گرم خاک گلدان‌های شبدر قرمز حاوی حدود ۱۴ نماتد از سنین مختلف در سانتی‌مترمکعب خاک با خاک گلدان مخلوط شد و سپس نهال‌ها کشت شد. برای تیمار با باکتری، از کشت ۴۸ ساعته باکتری *Pss* روی محیط آگار مغذی، سوسپانسیونی با غلظت حدود 10^6 CFU/ml (OD_{600}= 0.4) در آب مقطر تهیه شد. مایه‌زنی با استفاده از سرنگ به صورت قرار دادن یک قطره از سوسپانسیون در کنار پنج جوانه هلو در هر نهال (در پنج نهال) و همچنین با برداشتن پوست و ریختن ۳۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری زیر پوست (در قسمت میانی نهال) انجام شد، محل مایه‌زنی شده در پوست با پارافیلم پوشانده شد. همه تیمارها (نهال‌ها) به مدت یک‌شب با پوشش پلاستیکی (جهت ایجاد شرایط مرطوب برای باکتری) پوشانده شدند. گلدان‌ها به مدت ۱۸ ماه در شرایط دمایی ۵ ± ۲۷ درجه سلسیوس در گلخانه نگهداری شدند.

ارزیابی نتایج: پس از ظهور علائم شانکر روی نهال‌ها ، ۱۸ ماه بعد از مایه‌زنی، نتایج بر اساس میزان پیشرفت شانکر اطراف جوانه‌ها، شدت بیماری (با ارزیابی از طریق نمره‌دهی)، مرگ جوانه‌ها (شمارش تعداد جوانه مرده در هر نهال)، ارتفاع

نهال ، وزن کل، وزن ریشه (بلافاصله بعد از خارج کردن از گلدان) و جمعیت نماتد Mx در خاک فراریشه (تعداد نماتد در سانتی‌متر مکعب خاک) اندازه‌گیری شد و مورد مقایسه آماری قرار گرفت (Cao *et al.*, 2006). اختلاف هر شاخص با تیمار شاهد (بدون مایه‌زنی بیمارگر) محاسبه و مورد تجزیه آماری قراری گرفت. شدت بیماری با نمره‌دهی از صفر تا چهار (پنج کلاس یا رده) (۰: بدون علائم بیماری، ۱: علائم شانکر در کمتر از پنج درصد جوانه‌ها، ۲: علائم شانکر در اطراف جوانه‌ها و روی شاخه‌ها، ۳: علائم شانکر روی شاخه‌ها و تنه اصلی به همراه ترشح صمغ و ۴: علائم شانکر در تنه اصلی به همراه ترشح صمغ و مرگ شاخه‌های فرعی) و با استفاده از فرمول زیر ارزیابی شد (Madden *et al.*, 2007).

$$\text{شدت بیماری} = \frac{\text{جمع حاصل(تعداد نهال در هر رده یا کلاس} \times \text{شاخص)}}{5}$$

جداسازی باکتری *Pss* از نهالهای مایه‌زنی شده: برای تعیین ارتباط علائم بیماری با *Pss* قبل و بعد از اجرای آزمایش نمونه‌هایی از شاخه با علائم شانکر از درختان تهیه شد. در آزمایشگاه با استفاده از روش‌های استاندارد جداسازی و شناسایی باکتری‌های بیماری‌زای گیاهی باکتری عامل مشخص شد. آزمون‌های گرم و لوپات (LOPAT) و سایر آزمون‌های فیـزیـولوژیکی و بیوشیمیایی (کاتالاز، هسته یخ، رشد در شرایط بی‌هوازی، تحمل نمک، تایروزیناز، ژلاتیناز، هیدرولیز آسکولین، استفاده از قندهای د- آرابینوز ، ال- رامنوز، اینوسیتول، دالستیول و مانیتـول) روی جدایه‌ها انجام شـد (Schaad *et al.*, 2001).

تجزیه‌وتحلیل داده‌های آماری: آزمایش به صورت فاکتوریل درقالب طرح کاملا تصادفی با پنج تکرار اجرا شد و برای تجزیه آماری داده‌ها از نرم‌افزار SAS استفاده گردید (Statistical Analysis System;SAS Institute, Cary, NC, 1998, ver. 6.03). با توجه به دامنه وسیع تفاوت بین داده‌ها ابتدا با استفاده از فرمول Arcsin√x تبدیل داده انجام شد. برای مقایسه میانگین ها از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال یک درصد استفاده شد (Fernandez, 1992).

نتایج

جداسازی بیمارگر: بر اساس نتایج بررسی ویژگی‌های بیوشیمیایی و ریخت‌شناسی ، جدایه‌های باکتری، *Pss* تشخیص داده شدند(جدول ۱). اگرچه گونه‌های دیگری از باکتری‌ها همراه نمونه‌ها با علائم شانکر بودند اما فراوانی جدایه های *Pss* بیشتر از سایرین بود.

جدول ۱. ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی جدایه‌های *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* از بادام و هلو در باغ‌های استان چهارمحال و بختیاری

ویژگی	واکنش
گرم	-
تولید پیگمان سبز–زرد	+
رنگ پرگنه	سفید
لوان	+/-
اکسیداز	-
لهانیدن غده سیب زمینی	-
آرژنین دهیدرولاز	-
واکنش فوق حساسیت	+
آزمون هوازی/بیهوازی	هوازی
کاتالاز	+
هیدرولیز ژلاتین	-
هیدرولیز آسکولین	+
هیدرولیز توئین ۸۰	-
اوره‌آز	-
مولد هسته یخ	+
رشد در ۴۱ درجه سلسیوس	-
رشد در ۴ درجه سلسیوس	+
:توانایی مصرف	
لاکتوز	-
آرابینوز	-
مانیتول	+
سوربیتول	+

واکنش منفی - – ،واکنش مثبت - +

اثر مایه‌زنی باکتری و نماتد روی شاخص‌های رشد و بیماریزایی: بر اساس نتایج تجزیه واریانس مایه‌زنی بیمارگر (تیمار نوع بیمارگر) اثر معنی‌داری در شاخص‌های رشد (ارتفاع گیاه، وزن کل و وزن ریشه) و شاخص‌های بیماریزایی (مرگ جوانه و شدت بیماری) در گیاهان مورد آزمایش شد. اثر پایه در مرگ جوانه، شدت بیماری و جمعیت نماتد معنی‌دار بود، اما روی شاخص‌های رشد گیاه معنی‌دار نبود. اثر متقابل پایه با بیمارگر تنها روی شدت بیماری، ارتفاع گیاه و جمعیت نماتد اثر معنی‌دار داشت. در مایه‌زنی منفرد برای نماتد در شاخص‌های رشد گیاه و جمعیت نماتد بین دو پایه تفاوت معنی دار بود اما در شاخص‌های بیماریزایی نبود. در مایه‌زنی با باکتری در شاخص‌های شدت بیماری، ارتفاع، وزن کل و وزن ریشه گیاه بین دو پایه تفاوت معنی‌دار بود(جدول ۲).

جدول۲. تجزیه واریانس اثر آلودگی توأم نهال‌های هلو به *Mesocriconema xenoplax* و *Pseudomonas syringae* pv *syringae* در ایجاد شانکر باکتریایی

		میانگین مربعات					
منبع تغییر	درجه آزادی	مرگ جوانه	شدت بیماری	ارتفاع گیاه	وزن کل	وزن ریشه	جمعیت نماتد
بیمارگر	۲	۱۶/۱**	۱۲/۳**	۳۹/۹**	۶۰/۹**	۶/۸**	۲۸/۴**
پایه	۱	۴/۳**	۱/۱۶**	۲/۰۹	۱۵۹۷/۲	۶۲/۵	۴۲**
بیمارگر*پایه	۲	۰/۰۰۳	۰/۳۸**	۷/۰۳**	۹/۲	۰/۴۶	۱۰/۶**
خطا	۲۴	۰/۳۴	۰/۰۳	۱/۵۷	۲/۹	۰/۵۶	۰/۳
کل	۲۹	–	–	–	–	–	–
ضریب تغییرات	–	۱۵/۶	۱۲/۴	۲۲	۲۲/۴	۲۱/۷	۲۱

مقایسه میانگین شاخص‌های رشد و بیماریزایی اثر آلودگی بیمارگرهای مختلف در دو پایه Gf677 و GN نشان داد که تفاوت معنی‌داری در دو پایه وجود دارد (جدول ۳). مرگ جوانه در دو پایه در هر سه تیمار مایه‌زنی بیمارگر تفاوت معنی‌داری نشان نداد اما در شدت بیماری و جمعیت نماتد تفاوت معنی‌داری در تیمارهای مایه‌زنی مشاهده شد (جدول ۳). از نظر شاخص-های رشد(ارتفاع گیاه، وزن کل و وزن ریشه) دو پایه واکنش متفاوت و معنی‌داری نشان دادند. اما در هر پایه نتایج متفاوت بود به طوری‌که در پایه GF677 تمام شاخص‌های رشدی گیاه و شاخص‌های بیماریزایی اختلاف معنی‌داری باهم داشتند به طوری‌که بیشترین مرگ جوانه و شدت بیماری در مایه‌زنی توام نماتد و باکتری و بیشترین کاهش شاخص‌های رشدی گیاه نیز در این تیمار بود (جدول ۳). چنین نتایجی نیز در پایه GN اما با شدت کمتری از کاهش شاخص‌های رشد مشاهده شد. در گلدان‌های پایه GN در تیمار آلودگی توأم باکتری و نماتد مرگ جوانه و شدت بیماری بیشتر از آلوده سازی تنها با باکتری بود. در گلدان‌هایی که فقط با نماتد تیمار شده بودند مرگ جوانه یا علائم شانکر مشاهده نشد اما وزن ریشه و ارتفاع گیاه در هر دوپایه کمتر از شاهد بود. در نهال‌های پیوندی روی پایه GF677 که با هر دو بیمارگر Pss و Mx مایه‌زنی شده بودند طول شانکر تا بیش از ۳۰ سانتی‌متر بود و در یک نهال مرگ سرشاخه مشاهده شد (شکل ۲).

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر آلودگی توأم نهال‌های هلو به *Mesocriconema xenoplax* و *Pseudomonas syringae* pv *syringae* در ایجاد شانکر باکتریایی (آزمون دانکن).

تیمار		شاخص					
	پایه	مرگ جوانه (تعداد)	شدت بیماری	ارتفاع گیاه (سانتیمتر)	وزن کل (گرم)	وزن ریشه (گرم)	جمعیت نماتد (در گرم خاک)
مایه‌زنی نماتد	GF677	۱/۴ب پ*	۰/۲۸ث	۲۵/۶ب	۲۰/۲ب	۴/۲ب	۵الف
	GN	۰/۶ب پ**	۰/۳ث	۹/۲ت	۷/۸ت	۱/۸ت	۱/۲ب
مایه‌زنی باکتری	GF677	۱/۸ب	۱/۷۸پ	۲۸/۲الف	۲۷/۲الف	۶الف	۰پ
	GN	۱ب پ	۱/۳۴ت	۹/۶ت	۱۰/۶پ	۲/۸پ	۰پ
مایه‌زنی باکتری و نماتد	GF677	۳/۸الف	۲/۸۸الف	۲۲/۸پ	۲۵الف	۴/۴ب	۴/۳الف
	GN	۳الف	۲/۱۲ب	۷/۴ث	۱۰/۶پ	۱/۴ت	۱ب

* در ستون‌ها میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح احتمال ۱٪ تفاوت معنی‌داری ندارند.

** اعداد اختلاف هر تیمار(برای همه شاخص‌ها) با شاهد (بدون تلقیح نماتد و باکتری) از همان پایه است.

بحث

شانکر باکتریایی درختان میوه هسته‌دار (به‌ویژه هلو)، مهم‌ترین بیماری باکتریایی این گیاهان در مناطق سردسیر ازجمله استان چهارمحال و بختیاری است. چون وقوع و شدت این بیماری با عوامل متعدد زنده و غیرزنده مرتبط است، بنابراین یک پاتوسیستم پیچیده بوده و مدیریت آن‌یک برنامه تلفیقی را می‌طلبد (Husseini & Akköprü, 2020). در یک برنامه مدیریت تلفیقی موفق، اولین قدم شناسایی بیمارگر(ها) و تعیین عوامل زنده و غیر زنده دخیل در ایجاد بیماری توسط آن است. یکی از عوامل زنده مستعدکننده درخت در ایجاد شانکر باکتریایی، نماتدهای حلقه‌ای هستند. جمعیت بالای این نماتدها باعث افزایش حساسیت درخت به شانکر می‌شود (Mojtahedi *et al.*, 1975). در این مطالعه، اثر Mx و Pss به تنهایی و به طور توام در ایجاد شانکر باکتریایی روی رقم زعفرانی هلو پیوند شده بر روی دو پایه GF677 و GN بررسی شد. تلقیح هر عامل به تنهایی، باعث مشاهده تغییرات معنی دار شاخص های مورد مطالعه در مقایسه با شاهد شد. آلودگی به نماتد حلقه‌ای اثر معنی‌داری در تشدید بیماری شانکر باکتریایی درختان هلو توسط سویه‌های Pss دارد. طول شانکرها و مرگ جوانه‌ها در تیمارهای آزمایشی با آلودگی توام Mx و Pss، گویای این واقعیت است که وجود Mx باعث تشدید بیماری توسط Pss می‌گردد (جدول‌های ۱ و۲). این دستاورد با نتایج پژوهش‌های مشابه روی آلو، هلو و دیگر هسته‌داران هم‌خوانی دارد (Lownsbery *et al.*, 1973, Lownsbery *et al.*, 1977, Mojtahedi *et al.*, 1975, English *et al.*, 1982, Cao *et al.*, 2006,).

برخی پژوهش‌ها نشان داده که یک دوره حداقل دوساله با جمعیت بالایی از Mx لازم است تا این نماتد به‌عنوان یک فاکتور مستعد کننده درخت برای ابتلا به شانکر باکتریایی عمل کنند (Cao *et al.*, 2006). بررسی‌های میدانی در حاشیه زاینده‌رود نشان می‌دهد که در باغ‌های بادام و هلو واکاری شده با درختانی با پایه GN، توان رویش درختان بیشتر و آلودگی به شانکر در مقایسه با درختان با پایه GF677 کمتر است و به همین دلیل باغداران تمایل بیشتری بر استفاده از پایه GN دارند (Amanifar, 2022). در این بررسی نیز در شرایط گلخانه، شاخص‌های رشد در گلدان‌هایی با پایه GN (متحمل به نماتد) تلقیح شده با Mx تفاوت معنی‌داری با گلدان‌های پایه GF677 (حساس به نماتد) نشان دادند. در آلودگی توأم Mx و Pss نیز این تفاوت مشهود بود (جدول‌های ۱ و ۲).

نماتدهای حلقه‌ای انگل‌های خارجی هستند که از سلول‌های کورتکس ریشه تغذیه می‌کنند و با ایجاد تغییراتی در سلول بافت میزبان مواد مغذی موردنیاز برای نماتد فراهم می‌شود (Hussey *et al.*, 1992). در اثر تغذیه نماتدهای حلقه‌ای از ریشه میزبان حساس حجم ریشه کاهش می‌یابد (شکل ۲ سمت چپ)، همچنین ریشه کوتاه شده و باعث کاهش ارتفاع و وزن گیاه می‌گردد (Nyczepir *et al.*, 1997; Nyczepir *et al.*, 1987). نماتدهای حلقه‌ای به‌طور معنی‌داری باعث کاهش غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم در برگ هلو می‌شوند، علاوه بر این باعث تنش کم‌آبی در برگ آلو می‌گردند (Sharpe & Reilly, 1986). در جمعیت بالای نماتدهای حلقه‌ای میزان آمینواسیدهای آزاد در ریشه و شاخه هلو کاهش می‌یابد که ممکن است مربوط به کاهش میزان جذب نیتروژن در ریشه‌های آسیب‌دیده باشد (Nyczepir *et al.*, 1997).

پژوهش انجام‌شده پیرامون نماتدهای بادام در منطقه سامان از استان چهارمحال و بختیاری نشان داده که پراکنش، فراوانی و جمعیت Mx بیشتر از سایر نماتدها بوده است، جمعیت این‌گونه تا ۱۲ عدد در هر سانتی‌متر مکعب خاک نیز شمارش‌شده است، در باغ‌های بادام آلوده به شانکر باکتریایی در مقایسه با باغ‌های بدون علائم بیماری جمعیت بیشتری از Mx شکار شد (Eshaghi, 2000). میزان بیماری شانکر باکتریایی درختان میوه‌ی هسته‌دار و فراوانی جمعیت Mx در حاشیه زاینده‌رود از باغ‌های بالادست (کنار سد زاینده‌رود) به سمت باغ‌های پایین‌دست افزایش چشمگیری نشان می‌دهد (Amanifar, 2020) به‌طوری‌که در این منطقه نابودی کامل برخی باغ‌های هلو در اثر شانکر باکتریایی به یک معضل اجتماعی تبدیل‌شده است. چون منبع آب آبیاری باغ‌های حاشیه زاینده‌رود رودخانه است و انتقال اندام‌های تکثیری نماتدها توسط آب آبیاری به‌راحتی صورت می‌گیرد(Amanifar, 2021)، این احتمال وجود دارد که با ورود پساب در باغ‌های بالادست مایه آلودگی وارد رودخانه شده و سهم باغ‌های پایین‌دست در میزان آلودگی آب آبیاری به بیمارگر (نماتد) بیشتر شود.

کاهش غلظت نیتروژن در واکنش آلودگی به نماتد حلقه‌ای در بافت برگ و شاخه هلو و آلو گزارش‌شده است (Mojtahedi *et al*., 1975, Cao *et al*., 2006)، استفاده از کودهای ازته در کاهش بیماری شانکر باکتریایی هلو و سایر هسته‌داران به اثبات رسیده است و اندازه شانکر با مصرف نیتروژن کاهش‌یافته است(Cao *et al*., 2013). در محلول‌پاشی درختان هلو با ازت (اوره) در حاشیه زاینده‌رود میزان و شدت بیماری (اندازه شانکر) در مقایسه با درختان شاهد حدود ۲۸ ٪ کاهش‌یافته است، همچنین ترکیب اوره با سموم مسی در مقایسه با استفاده تنها از این ترکیبات باعث کاهش معنی‌دار شدت و میزان شانکر شد (Amanifar, 2020). استفاده از ترکیبات ازته در خاک باعث کاهش جمعیت نماتدهای حلقه‌ای که با بیماری شانکر باکتریایی برهمکنش دارند می‌شود (Mojtahedi *et al*., 1976). سویه‌های Pss عامل شانکر باکتریایی درختان میوه‌ی هسته‌دار، سیرینگومایسین تولید می‌کنند که یک فیتوتوکسین حلقه‌ای است و با ایجاد اختلال در تبادل یونی غشاء سلولی میزبان باعث مرگ سلول میزبان می‌شود. تلقیح سیرینگومایسین خالص به ساقه هلو علائم شانکر ایجاد می‌کند، این توکسین توسط ژن syrB کنترل می‌شود، برخی از ترکیبات گیاهی مانند برخی قندها و فنل‌ها بیان این ژن را افزایش می‌دهد، در عوض نیتروژن موجود در تنه درختان باعث کاهش بیان ژن syrB می‌شود. ترکیباتی که نسبت کربن به نیتروژن را در گیاه کاهش می‌دهد باعث ایجاد مقاومت علیه شانکر باکتریایی می‌شود (Cao *et al*., 2005).

پیش‌تر، کوتاهی عمر درختان در برخی از گونه‌های هسته‌داران مانند هلو و آلو به برهمکنش بین بیماری شانکر باکتریایی با عامل Pss و سایر عوامل زنده به‌ویژه Mx نسبت داده شده است (Nyczepir, 2011). در این بررسی نیز شدت بیماری شانکر روی هلو رقم زعفرانی در تیمارهای آلودگی توأم با Mx و Pss به‌طور معنی‌داری در دوپایه GN (با حجم ریشه بالا که احتمالا صفت ذاتی پایه است) و GF677 (با حجم ریشه پایین)، در مقایسه با تیمارهای آلوده‌سازی با یکی از بیمارگرهای فوق، افزایش نشان داد (جدول‌ها ۱ و ۲). بر اساس نتایج پژوهش‌های قبلی (Amanifar, 2019) فراوانی و جمعیت Mx روی درختان میوه هسته‌دار دارای علائم شانکر باکتریایی در استان چهارمحال و بختیاری بیشتر از سایر نماتدهاست و مهم‌ترین بیماری و عامل کوتاهی عمر هلو در این استان شانکر باکتریایی است. از طرفی نماتد Mx به‌عنوان یکی از عوامل مستعد کننده درخت برای ابتلا به بیماری شانکر باکتریایی ناشی از Pss به اثبات رسیده است (Mojtahedi *et al*., 1975).

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این پژوهش، می‌توان گفت که به‌کارگیری پایه‌ها و هیبریدهایی مانند GN که متحمل به Mx است می‌تواند به‌منظور کاهش جمعیت نماتدهای انگل گیاهی در برنامه های مدیریت تلفیقی شانکر باکتریایی هلو به کار رود.

منابع

اسحقی، رحیم. (۱۳۷۹). بررسی نماتدهای انگلی گیاهی مرتبط با ریشه درختان بادام در منطقه سامان، استان چهار محال و بختیاری. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران، ۹۸ صفحه.

امانی فر، ناصر. (۱۳۹۷). فراوانی جداسازی برخی از میکروارگانیسم‌ها و بیمارگرهای گیاهی همراه با عارضه واکاری باغ‌های هلو در استان چهارمحال و بختیاری. *مجله بیماری‌های گیاهی*. جلد ۵۴ (۳) : ۲۱۹-۲۰۷.

امانی فر، ناصر. (۱۳۹۹الف). آفتاب‌سوختگی زمستانه عامل مستعد کننده (پیش آمودگی) شانکر باکتریایی درختان بادام و هلو در استان چهارمحال و بختیاری. *مجله آفات و بیماری‌های گیاهی*. جلد ۸۸ (۱):۱۲۷-۱۱۷.

امانی‌فر، ناصر. (۱۳۹۹ب). ارزیابی کارآیی چند ترکیب شیمیایی در کنترل شانکر باکتریایی هلو. نشریه آفت‌کش‌ها در علوم گیاه‌پزشکی. دوره ۷ شماره ۱ صفحات ۱-۱۱.

امانی‌فر، ناصر. (۱۴۰۰). ارزیابی مقاومت تعدادی از پایه‌های رویشی بادام و هلو به *Mesocriconema xenoplax* و *Pseudomonas syringae*به‌منظور مدیریت بیماری شانکر باکتریایی. *سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی*. گزارش

نهایی پروژه تحقیقاتی ۴۰ صفحه.

بی‌نام. (۱۴۰۰). آمارنامه کشاورزی سال ۱۴۰۰. *جلد سوم محصولات باغبانی و گلخانه‌ای*. معاونت برنامه‌ریزی و اقتصادی، *مرکز فناوری اطلاعات و ارتباطات*. ۳۲۸ صفحه.

REFERENCES

Amanifar, N. (2019). Frequency isolation some of microorganisms and pathogens associated with peach replant problem in orchrads of Chahar Mahal va Bakhtiary province. *Iranian journal of plant pathology*, 54: 207-229. (In Persian with English summary).

Amanifar, N. (2020). Winter sunscald as a predisposing factor for bacterial canker of almond and peach trees in Chaharmahal va Bakhtiari province. *Applied Entomology and Phytopathology*, 88: 117-127. (In Persian with English summary).

Amanifar, N. (2022). Evaluation resistance of some rootstocks of almond and peach to *Mesocriconema xenoplax* and *Pseudomonas syringae* for managing bacterial canker disease. Agricultural, Research, Education and Extension Organization (AREEO) Final Report of Project 40 pp. (In Persian with English summary).

Cao, T., McKenry, M.V., Duncan, R.A., DeJong, T.M., Kirkpatrick, B.C. & Shackel, K.A. (2006). Influence of ring nematode infestation and calcium, nitrogen, and indoleacetic acid applications on peach susceptibility to *Pseudomonas syringae* pv. s*yringae. Phytopathology*, 96: 608–615.

Cao, T.B.C., Kirkpatrick, K.A., Shackel, K.A. DeJong & T.M. (2011). Influence of mineral nutrients and freezing-thawing on peach susceptibility to bacterial canker caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae. Fruits*, 66: 441–452.

Cao T., Duncan R.A., Kirkpatrick B.C., Shackel K.A. & DeJong T.M. (2013). Effect of calcium and nitrogen fertilization on bacterial canker susceptibility in stone fruits. Fruits 68: 245–254.

Desaeger, J., Catherine, W. & Zasada I. (2020). New reduced-risk agricultural nematicides- rationale and review. *Journal of Nematology*, 52: 1-16.

English, H., Lownsbery B. F., Schick F. J. & Burlando T. (1982). Effect of ring and pin nematodes on the development of bacterial canker and *Cytospora* canker in young 'French' prune trees. *Plant Disease*, 66:114-116.

Eshaghi R. (2000). A survey of plant parasitic nematodes associated with roots of almond trees in the Saman district, Chahar Mahal va Bakhtiary province. MS thesis, Shahid Chamran University,Ahvaz, Iran, 98 pp. (In Persian).

Fernandez, G. C. J. (1992). Residual analysis and data transformations: important tools in statistical analysis. *HortScience*, 27:297-300.

Husseini A. & Akköprü A. (2020). The possible mechanisms of copper resistance in the pathogen *Pseudomonas syringae* pathovars in stone fruit trees. *Phytoparasitica*, 48:705–718.

Hussey R. S., Mims C. W. & Westcott S. W. (1992). Ultrastructure of root cortical cells parasitized by the ring nematode *Criconemella xenoplax*. Protoplasma 167:55-65.

Lownsbery, B. F., English, H., Moody, E. H. & Shick, F. J. (1973). *Criconemoides xenoplax* experimentally associated with a disease of peach. *Phytopathology*, 63:994-997.

Lownsbery, B. F., English, H., Noel, G. R. & Schick, F. J. (1977). Influence of Nemaguard and Lovell rootstocks and *Macroposthonia xenoplax* on bacterial canker of peach. *Journal of Nematololgy*, 9:221-224.

Madden, L. V., Hughes, G. and van den Bosch, F. 2007. The Study of Plant Disease Epidemics. APS Press, St. Paul, MN. 421 pp.

Mojtahedi H. & Lownsbery B.F. (1975). Pathogenicity of Criconemoides xenoplax to prune and plum rootstocks, *Journal of Nematololgy*, 72: 114–119.

Mojtahedi, H., Lownsbery, B. F. & Moody E. H. (1975). Ring nematodes increase development of bacterial cankers in plums. *Phytopathology*, 65:556-559.

Nyczepir, A. P. (2011). Host suitability of an endophyte-friendly tall fescue grass to *Mesocriconema xenoplax* and Pratylenchus Vulnus. *Nematropica*, 41:45-51.

Nyczepir, A. P., Wood, B. W. & Reighard, G. L. (1997). Impact of Meloidogyne incognita on the

incidence of peach tree short life in the presence of *Criconemella xenoplax*. *Journal of Nematology*, 29:725–30.

Sas.1998. The SAS System for Windows 6.03. SAS Institute Inc, Cary, NC

Sayler, R. J., Southwick, S. M., Glozer, J. T. K., Little, E. L. & Kirkpatrick, B. C. (2002). Effects of rootstock and budding height on bacterial canker in French prune. *Plant Disease*, 86:543-546.

Schaad, N.W.; Jones, J.B. & Chun, W. (2001). *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*, 3rd ed.; American Phytopathological Society: St. Paul, MN, USA, ISBN 978-0-89054-263-7.

Sharpe R. R. & Reilly C. C. (1986). Elemental and chemical concentration in peach tree short life and healthy trees. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 17:761-774.

Vigouroux, A. & Bussi, C. (1998). A predisposing influence of pruning on the development of bacterial canker in the peach tree its probable relation to stem water content in winter. *Acta Horticulturae* 465.

Wenneker, M., Janse, J.D. de Bruine, A., Vink, P. & Pham, K. (2012). Bacterial canker of plum caused by *Pseudomonas syringae* pathovars, as a serious threat for plum production in the Netherlands. *Journal of Plant Pathology*, 94:11- 13.

Zehr, E. I., Lewis, S. A. & Bonner, M.J. (1986). Some herbaceous hosts of the ring nematode (*Criconeme xenoplax*). *Plant Disease*, 70:1066-1069.