تأثیر جدایه‌های *Pseudomonas fluorescens* بر شدت بیماری، صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در غده‌های بذری تولیدی ارقام سیب‌زمینی آلوده به *Rhizoctonia solani* در شرایط گلخانه

محمد انتصاری[۱]، بهنام کامکار*[۲]، فرشید قادری فر[۲]، مسعود احمدزاده[۳]

۱- گروه علوم و تکنولوژی بذر، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گرگان، گرگان، ایران

۲- گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه گرگان، گرگان، ایران

۳- گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، تهران، ایران

* مسئول مکاتبات: بهنام کامکار، پست الکترونیک: behnam.kamkar@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۸/۰۶ ۵(۲) ۴۳-۵۴ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۴/۰۴

چکیده

به‌منظور ارزیابی تأثیر تیمار جدایه‌های باکتری *Pseudomonas fluorescens* بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و شدت بیماری غده‌های بذری سیب‌زمینی در حضور عامل بیماریزا *Rhizoctonia solani*، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای این پژوهش شامل سه جدایه (P5) *P. fluorescens* UTPF5، (P68) *P. fluorescens* UTPF68 و (P74) *P. fluorescens* UTPF74، قارچ بیمارگر *R. solani* AG3 و ارقام سیب‌زمینی شامل آگریا و سانته بود. صفات اندازه‌گیری شده در این آزمایش شامل وزن خشک ریشه، طول استولون، وزن خشک استولون، وزن خشک غده، وزن تر غده، تعداد غده و تعداد استولون، شدت بیماری در غده‌های بذری و فعالیت آنزیم‌های GPX و β-1,3-glucanase و محتوای پرولین، مالون دی‌آلدهید و قند محلول بود. نتایج نشان داد که استفاده از تیمار باکتری توانست در حضور عامل بیماری‌زا تأثیر معنی‌داری بر صفات اندازه‌گیری شده داشته باشد و هم‌چنین شدت بیماری را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش دهد. ترکیب تیماری P5 و رقم سانته نسبت به سایر ترکیبات بر صفات اندازه‌گیری شده تأثیر بیشتری داشت، به‌طوری که بیشترین وزن خشک ریشه، طول استولون، وزن خشک استولون، وزن خشک غده، وزن تر غده و تعداد استولون در این تیمار به دست آمد و نسبت به شاهد به‌ترتیب افزایش ۰/۶۲، ۰/۸۶، ۱/۴۰، ۲/۳۱، ۱/۳۷ و ۰/۶۳ برابری مشاهده شد. استفاده از تیمار P5 باعث افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و بتا ۱ و ۳ گلوکاناز (β-1,3-glucanase)، محتوای پرولین و قند محلول به ترتیب به میزان ۱/۳۲، ۰/۶۱، ۲ و ۲/۶ برابر و از طرف دیگر کاهش پراکسیداسیون لیپید به میزان ۵۷ درصد نسبت به شاهد در شرایط حضور عامل بیماری‌زا شد.

واژه‌های کلیدی: کنترل بیولوژیک، سیب‌زمینی، شوره سیاه، مقاومت

مقدمه

سیب‌زمینی یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی در ایران است که ۳۰ درصد سطح زیر کشت محصولات در گروه سبزیجات را در حدود ۱۵۸ هزار هکتار از اراضی با میانگین عملکرد ۳۱/۵ تن در کشت آبی را به خود اختصاص داده است (بی‌نام، ۱۳۹۵). بیماری شانکر رایزوکتونیایی یا شوره سیاه سیب‌زمینی ناشی از قارچ *Rhizoctonia solani* Kühn یکی از مهم‌ترین بیماری‌های خاکزاد سیب‌زمینی در ایران و جهان می‌باشد که باعث کاهش عملکرد محصول می‌شود (Hooker, 1983; Behdad, 2020)، این قارچ در اوایل فصل رشد سبب ایجاد شانکر روی ساقه و استولون و در انتهای فصل منجر به تشکیل توده‌های سیاه (سختینه‌ها) روی غده‌ها می‌شود. نتیجهٔ چنین رویدادی ظهور غده‌های سبز رنگ روی ساقه، آسیب شدید به استولون‌ها و ساقه‌های زیرزمینی و در نتیجه تولید غده‌های با کیفیت پایین و کاهش عملکرد است

(Brewer *et al.*, 2005; Larkin, 2016). بیماری رایزوکتونیایی سیب‌زمینی اغلب ناشی از قارچ *R. solani* AG-3 است. استفاده از سموم شیمیایی همچون متیل بروماید موجب بوجود آمدن سویه‌های مقاوم می‌شود و تأثیرات مخرب زیست محیطی به‌دنبال دارد (Arabiat & Khan, 2014). بنابراین استفاده از یک روش جایگزین ضرورت دارد. یکی از جدیدترین روش‌ها استفاده از عوامل بیوکنترل می‌باشد که پتانسیل بالایی برای محافظت از محصولات تولیدی دارند که می‌توانند با کنترل بیماری، عملکرد و کیفیت محصولات کشاورزی را نیز بهبود بخشند (Lakrin, 2016). کنترل زیستی جدایه‌های *Rhizoctonia* توسط تعدادی از باکتری‌های جنس سودوموناس در مطالعات متعددی گزارش شده است (Kumar *et al.*, 2013; Elkahoui *et al.*, 2015). عامل بیماری از طریق تأثیر بر تولید گونه‌های اکسیژن رادیکال (ROS) و تحت تأثیر قراردادن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و هم‌چنین از طریق افزایش پراکسیداسیون لیپید در جداره غشا باعث مختل شدن فعالیت و متابولیسم‌های گیاه شده و روی عملکرد و اجزای عملکرد تأثیر می‌گذارد. در این راستا عوامل مهار زیستی از طریق تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و آنزیم‌های دیگر باعث حذف و غیرفعال شدن گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند (Singh *et al.*, 2015).

امروزه مکانیزم‌های مستقیم اثر بخشی انواع ریزوباکتری‌ها مانند تولید فیتوهورمون‌ها، اکسین‌ها (Piromyou *et al.*, 2011)، سیتوکینین‌ها و جیبرلین‌ها (Gutierrez Manero *et al.*, 2001)، افزایش دسترسی گیاه به مواد غذایی از جمله فسفر از طریق حل آنزیمی و غیرآنزیمی فسفات‌های نامحلول آلی و معدنی و تسهیل جذب آهن با تولید سیدروفور (Vessey, 2003; Patten & Glick, 2002)، توسعه سیستم ریشه‌ای، تولید ریزوبیتوکسین (Rhizobitoxin) به منظور کاهش اثرات سوء اتیلن و افزایش گره‌زایی به اثبات رسیده است (Antoun & Kloepper, 2001). هم‌چنین از ساز و کارهای غیر مستقیم اثرگذاری باکتری‌های پروبیوتیک به مواردی از قبیل تولید آنتی بیوتیک‌ها، آنزیم‌های تجزیه کننده نظیر کیتیناز و پروتئاز، تولید متابولیت‌های ضدقارچ، تولید آنزیم‌های مضمحل کننده دیواره سلولی قارچ و القاء مقاومت سیستمیک در مستندات علمی اشاره شده است (Ahmadzadeh, 2014; Lakrin, 2016).

در برخی از سیستم‌های بیماری‌زای گیاهی، کاربرد مواد شیمیایی نمی‌توانند به تنهایی به کنترل قابل توجهی منتهی شوند و خسارت‌های زیست‌محیطی متعددی به‌دنبال داشته و باعث کاهش عملکرد و کیفیت ریزغده‌های تولیدی می‌شود. نظر به مطالعات اندک در خصوص مایه زنی ریزغده سیب زمینی با عوامل کنترل زیستی و تحریک کننده رشد، لازم بود روی عملکرد و تولید ریزغده در شرایط آلودگی بیماری و تغییرات بیوشیمیایی نیز مطالعه شود. هدف از این تحقیق استفاده از عامل زیستی *Pseudomonas fluorescens* برای تولید ریزغده‌های سیب‌زمینی عاری از بیماری شانکر رایزوکتونیایی و بررسی فرایندهای آنزیمی دخیل در شرایط گلخانه بود.

مواد و روش‌ها

به منظور ارزیابی تأثیر تیمار باکتری *P. fluorescens* بر تولید غده‌های بذری سیب‌زمینی در حضور بیمارگر *R. solani* و بررسی صفات موفولوژیک و عملکرد آن و هم‌چنین بررسی صفات بیوشیمیایی و آنزیم‌ها در حضور بیمارگر و عامل کنترل زیستی، آزمایش‌ها درگلخانه به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۴ انجام شد. تیمارهای این پژوهش شامل سه سویه باکتری شامل: *P. fluorescens* UTPF5 (P5)، *P. fluorescens* UTPF68 (P68) و *P. fluorescens* UTPF74 (P74) قارچ بیمارگر *R. solani* AG3، تهیه شده از کلکسیون گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تهران و ارقام سیب‌زمینی شامل آگریا و سانته تهیه شده از موسسه ثبت و گواهی نهال و بذر بود. تیمارهای مورد استفاده شامل سه جدایه باکتری و شاهد (۴ تیمار)، حالت بیمارگر و بدون بیمارگر (۲ تیمار) و ارقام سیب زمینی (۲ تیمار) در سه تکرار بود.

روش آغشته‌سازی بذر با *P. fluorescens*

به‌منظور آغشته‌سازی بذر به جدایه‌های آنتاگونیست از روش Weller و همکاران (۱۹۸۳) استفاده شد. یک لوپ کامل از کشت ۴۸ ساعته هر جدایه آنتاگونیست باکتریایی روی محیط کینگ بی به فلاسک‌های حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط مایع کینگ بی منتقل شد و به‌مدت ۴۸ ساعت روی دستگاه شیکر (۱۲۰ دور در دقیقه) در دمای ۲۷ درجهٔ سلسیوس قرارگرفت. سلول‌های باکتریایی با استفاده از سانتریفیوژ (به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۶۰۰۰ دور در دقیقه) رسوب داده و چند بار با محلول نمک فیزیولوژیک برای بر طرف شدن باقیمانده محیط غذایی شستشو شدند. سپس سلول‌های باکتریایی با استفاده از سانتریفیوژ مجدد از این محلول جداسازی و پس از تعیین جمعیت سوسپانسیون 1×10^{7}CFU/ml آن‌ها در محلول یک درصد کربوکسی متیل سلولز به میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر در هر ۱۰۰۰ گرم بذر برای آغشته‌سازی غده‌های بذری مورد استفاده قرارگرفتند.

تعیین شدت بیماری

غده‌های بذری سیب‌زمینی شامل ارقام آگریا و سانته عاری از بیماری‌های ویروسی بذرزاد، بیماری‌های قارچی و باکتریایی و دارا بودن گواهی مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال با اندازه بذری (۳۰-۲۵ میلی‌متر) تهیه شد. برای کشت، گلدان‌هایی با قطر دهانه و عمق ۲۰ سانتی‌متر با مخلوط پیت‌ماس و پرلیت ضدعفونی شده (به‌نسبت حجمی ۱:۱) تا نیمه پر شده و یک عدد ریزغده در آن قرار داده شد. عامل بیماری *R. solani* برای تلقیح به خاک گلدان‌ها ابتدا روی بذر ارزن سترون به مدت ۱۰ روز در دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس رشد داده شد و سپس به میزان ۱/۵ گرم در هر کیلوگرم خاک سترون به‌طوریکه نصف گلدان با خاک آلوده پر شد و سپس یک لایه خاک سترون به ارتفاع دو سانتی‌متر روی آن ریخته شد. سپس بذرهای تیمار شده روی آن قرار گرفتند و با خاک پوشیده شد. گیاهان در شرایط گلخانه (۲±۲۵ درجهٔ سلسیوس در روز و ۲±۱۸ درجهٔ سلسیوس در شب) و نور طبیعی روز همراه نور تکمیلی با تناوب نوری (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و تشعشع فعال فتوسنتزی حدود ۱۰۰۰-۱۱۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه و رطوبت نسبی ۸۵ درصد نگهداری شدند (دستگاه لوکس‌متر مدل MS6612).

پس از پایان رشد، ریشه‌ها و غده‌های حاصله به ملایمت در زیر آب شسته شدند و شدت بیماری آن‌ها بر اساس مقیاس یک تا شش از روش Atkinson و همکاران (۲۰۱۰) ارزیابی شد. در این روش، برای ارزیابی گیاهان سالم و بدون هیچ آلودگی، مقیاس صفر؛ یک تا ۵ درصد، مقیاس یک؛ ۶ تا ۱۰ درصد، ۲؛ ۱۱ تا ۲۵ درصد، ۳؛ ۲۶ تا ۵۰ درصد، ۴؛ ۵۱ تا ۷۰ درصد، ۵؛ ۷۶ تا ۱۰۰ درصد، ۶ در نظر گرفته شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX)

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) به روش (Dionisio-Sese & Tobita, 1998) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۳ میکرولیتر گایاکول، ۱۰ میکرولیتر پراکسیدهیدروژن (H_2O_2 ٪۳۰) و بافر فسفات سدیم ۳۰۰۰ میکرولیتر (pH=۷) و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. تغییرات جذبی در طول موج ۴۷۰ نانومتر با فاصله ۲۰ ثانیه ثبت شد. در نهایت فعالیت GPX بر پایه میزان جذب تتراگایاکول در میلی‌گرم غلظت پروتئین محاسبه شد.

فعالیت آنزیم بتا ۱ و ۳ گلوکاناز

بررسی فعالیت آنزیم بتا ۱ و ۳ گلوکاناز به‌روش (Miller, 1959) با تغییراتی به شرح زیر صورت گرفت: عصارهٔ آنزیمی تهیه شده، از فریزر خارج و در یخچال قرار داده تا به آرامی ذوب شود. سپس میکروتیوب‌های مربوطه برای ادامه آزمایش‌ها در مجاورت یخ قرار داده شدند. مخلوط واکنش شامل ۲۵۰ میکرولیتر محلول ۰/۵ درصد لامینارین (Laminarin from *Laminaria digitata*، ساخت کمپانی Sigma)، تهیه شده در بافر استات سدیم ۰/۰۵ مولار (pH=۵) و ۲۵۰ میکرولیتر عصاره بود. مخلوط حاصل برای مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب ۴۰ درجهٔ سلسیوس نگهداری شد. سپس واکنش با اضافه کردن ۵۰۰ میکرولیتر معرّف دی‌نیترو سالیسیلیک اسید (DNS) متوقف شد و برای مدت پنج دقیقه در آب در حال جوشیدن قرارگرفت. سپس حجم نهایی مخلوط واکنش به‌وسیله آب مقطر به دو میلی‌لیتر رسانده شد و جذب نوری آن با استفاده از اسپکتروفتومتر

(Varian Cary 100 Conc) در طول موج ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. دستگاه اسپکتروفتومتر برای هر نمونه به‌وسیله مخلوط واکنش که عصاره آن در حمام آب ۱۰۰ درجهٔ سلسیوس فعالیتش متوقف شده بود، صفر شد. فعالیت اختصاصی آنزیم به‌صورت میلی‌گرم گلوکز آزاد شده در دقیقه به ازای یک میلی‌گرم پروتئین موجود در عصاره تعیین شد.

اندازه‌گیری محتوای پرولین

میزان پرولین تجمع یافته در گیاه با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر و با توجه به منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف پرولین اندازه‌گیری شد (Bates *et al.*, 1973). ۵۰۰ میلی‌گرم از بذر سیب‌زمینی به داخل هاون چینی انتقال یافت و با افزودن ۴۶ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۹ درصد به آن در هاون کوبیده شد. سپس محلول حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد و ۲ میلی‌لیتر از محلول صاف شده به همراه ۲ میلی‌لیتر محلول ناین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک درون یک لوله آزمایش ریخته شد و به‌مدت یک ساعت در دمای ۳۶ درجهٔ سلسیوس در حمام بن ماری قرار گرفت. برای متوقف شدن واکنش، لوله‌های حاوی محلول بلافاصله در یخ قرار داده شدند. سپس ۶ میلی‌لیتر تولوئن به محلول اضافه و پس از تکان دادن، محلولی با دو فاز مجزا تشکیل شد که فاز بالایی برای اندازه‌گیری پرولین به‌کار گرفته شد. نمونه‌ها در طول موج ۵۲۶ نانومتر طیف‌سنجی شدند. محتوای پرولین براساس میکرومول پرولین در گرم بذر محاسبه شد.

اندازه‌گیری محتوای مالون دی آلدهید

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپید به روش هث و پاکر (Heath & Packer, 1968) همراه با تغییراتی انجام شد. در این روش، ۰/۲ گرم بذر سیب‌زمینی با ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرو استیک اسید ۰/۱ درصد در هاون چینی کوبیده و هموژنیزه شد. عصاره هموژنیزه به لوله سانتریفیوژ منتقل و به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۲۰ درجهٔ سلسیوس سانتریفیوژ شد. فاز میانی در زیر لایه لیپیدی برای اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپید مورد استفاده قرار گرفت. به ۲۵۰ میکرولیتر از این عصاره، ۲ میلی لیتر معرف TBA ۰/۲۵ درصد اضافه شد و به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت. بلافاصله پس از این مرحله لوله‌های آزمایش به مدت ۱۵ دقیقه در یک ظرف یخ قرار گرفتند. پس از این مدت، محلول‌ها دوباره به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجهٔ سلسیوس با سرعت ۱۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند و میزان جذب نور نمونه‌ها در طول موج‌های ۴۴۰، ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت شد. محلول شاهد حاوی ۲۵۰ میکرو لیتر تری‌کلرواستیک ۰/۱ درصد که با ۲ میلی‌لیتر معرف TBA ۰/۲۵ درصد مخلوط شده بود و تمامی تیمارها با محلول شاهد سنجیده شد. میزان پراکسیداسیون لیپید براساس مقدار مالون دی آلدهید (MDA) موجود در هر عصاره طبق رابطه زیر محاسبه شد:

$$LP\ (nmol.\ ml^{-1}) = [(A_{532}-A_{600})-[(A_{440}-A_{600})(MA)]]/157000]10^{6}$$.

که MA جذب مولی ساکارز در غلظت‌های ۱۰-۱ میلی مولار در ۵۳۲ و ۴۴۰ نانومتر است که به‌ترتیب ۸/۴ و ۱۴۷ محاسبه شد که نسبتی معادل ۰/۰۵۷۱ می‌باشد (Bramlage., Du & 1992). میزان پراکسیداسیون لیپید براساس نانومول MDA موجود به ازای هر گرم بذر بیان شد.

اندازه‌گیری میزان کل قندهای محلول

برای اندازه‌گیری میزان قند کل در تیمارهای مختلف به‌وسیله روش تغییر داده شده Sheligl (1986)، به‌صورت ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره الکلی تغلیظ شده با ۳ میلی‌لیتر معرف آنترون مخلوط و به‌مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجهٔ سلسیوس قرار گرفت. میزان جذب نور هر یک از تیمارها پس از سرد شدن در طول موج ۶۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

برای محاسبات آماری از نرم افزار SAS نسخه ۹/۴ و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیهٔ واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی همه تیمارها و اثرات متقابل بعضی از تیمارها بر صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار بود (جدول ۱). با توجه به معنی‌دار

شدن اثرات اصلی و متقابل، میانگین تیمارها به منظور بررسی ترکیب تیماری مطلوب مورد مقایسه و بررسی قرارگرفت.

نظر به معنی‌داری اثر اصلی (A) در جدول (۱) مقایسهٔ میانگین صفات اندازه‌گیری شده بین جدایه‌های باکتری مورد استفاده صورت پذیرفت. براساس نتایج به‌دست آمده (جدول ۲) مقایسه میانگین اثرات اصلی باکتری بر صفات مورفولوژیک دارای تأثیر معنی‌داری بر صفات موصوف بود، به‌طوری که در بین تیمارها، سویه باکتری P5 در صفات وزن خشک ریشه، وزن خشک استولون، وزن خشک ریزغده و تعداد استولون دارای بیشترین میزان و نسبت به شاهد دارای افزایش معنی‌دار ۵۴، ۵۵، ۳۸ و ۵۴ درصدی بود. در مجموع با نظر به این که غده سیب‌زمینی در انتهای استولون پس از تورم آن و ورود به فاز غده‌زایی شکل می‌گیرد، هر عاملی که زمینه‌ساز افزایش تعداد استولون شود، به‌عنوان پتانسیلی در راستای افزایش تعداد ریزغده تولیدی، قابل توجه خواهد بود. با توجه به‌این‌که عوامل بیوکنترل در جذب عناصر مغذی و در اختیار قرار دادن آن به گیاه عملکرد بالایی دارند در این مهم نیز باعث شده‌اند هم از طریق جذب عناصر و هم از طریق افزایش ظرفیت فتوسنتزی گیاه در اول فصل، اسمیلاسیون در گیاه افزایش و مخازن متعددی با توجه به تقاضای بالای گیاه ایجاد شود. البته نکته‌ای که بایستی مورد توجه قرارگیرد، وجود فرصت کافی به‌منظور تکمیل شدن دوره پر شدن غده سیب‌زمینی است که در نهایت میزان عملکرد گیاه را تعیین می‌کند.

جدول ۱- تجزیهٔ واریانس میانگین مربعات صفات مطالعه شده در ارقام سیب‌زمینی تحت تیمار باکتری در حضور و عدم حضور بیمارگر.

Table 1. Analysis of variance on the mean square of the studied traits in potato cultivars under *Pseudomonas fluorescens* treatment in with and without pathogen situation.

S.O.V.	df	Stolon number	Tuber number	Tuber fresh weight (g)	Tuber dry weight (g)	Stolon dry weight (g)	Stolon length (cm)	Root dry weight (g)
P. fluorescens (A)	3	83. 69**	30.87**	3058. 90**	326. 05**	0. 23**	359. 85**	2.81**
Cultivar (B)	1	4. 05 ns	6. 02**	788. 94**	84. 94**	0. 011 ns	65. 72**	0. 315**
Pathogen (C)	1	80. 22**	24.99**	3519. 1**	510. 67**	0. 22**	1030. 56**	2. 66**
B×A	3	2. 89 ns	0. 21 ns	41. 80 ns	7. 23 ns	0. 008 ns	24. 32**	0.0503 ns
C× A	3	0. 519 ns	1. 11**	70. 86**	8. 84 ns	0. 0014 ns	35. 14**	0. 018 ns
C×B	1	1. 416 ns	0.031 ns	0. 035 ns	0. 70 ns	0. 0039 ns	27. 88*	0. 131 ns
C×B×A	3	1. 81 ns	0. 22 ns	7. 86 ns	6. 04 ns	0. 005 ns	4. 49 ns	0. 026 ns
Error	32	1. 20	0. 11	16. 16	9. 98	0. 0032	5. 75	0. 040
C.V. (%)		8. 62	5. 64	4. 69	9. 68	8. 62	7. 78	8. 72

ns، * و **؛ به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, * and **; nonsignificant and significant at 1 and 5% level of probability, respectively.

نتایج حاضر با یافته‌های حسنی و همکاران (۲۰۱۶) مطابقت داشت. نتایج حاصل از تجزیهٔ واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات اصلی و متقابل تیمارهای مورد استفاده بر شدت بیماری‌زایی معنی‌دار بود (جدول ۳). با توجه به معنی‌داری اثرات متقابل مقایسه میانگین داده‌ها به منظور تعیین ترکیب تیماری مطلوب مورد بررسی قرار گرفت.

مقایسه میانگین ارقام سیب‌زمینی

مقایسهٔ میانگین بین ارقام در جدول (۴) نشان داد که وزن خشک ریشه، وزن خشک ریزغده و تعداد در رقم Agria نسبت به رقم Sante دارای افزایش معنی‌دار بود.

جدول ۲- تأثیر سویه‌های *Pseudomonas fluorescens* بر صفات مورفولوژیک غده‌های بذری سیب‌زمینی.

Table 2. Effect of *Pseudomonas fluorescens* on morphological traits of minituber of potato.

P. fluorescens	Stolon number	Tuber dry weight (g)	Stolon dry weight (g)	Root dry weight (g)
P5	16.59 a	40.13 a	0.87 a	3.02 a
P68	12.09 b	32.2 b	0.63 b	2.19 b
P86	11.40 bc	29.10 c	0.60 bc	2.07 bc
Crtl	10.76 c	29.086 c	0.56 c	1.95 c

* Means bearing the same letter in a column are not significantly different (LSD, α= 0.05).

جدول ۳. تجزیهٔ واریانس میانگین مربعات مربوط به‌شدت بیماری‌زایی ارقام سیب‌زمینی تحت تیمار باکتری *Pseudomonas fluorescens* در حضور بیمارگر.

Table 3. Analysis of variance on mean square of the severity disease under *Pseudomonas fluorescens* treatment in infected potato cultivars.

Cultivar	Tuber number	Tuber dry weight (g)	Root dry weight (g)
Agria	6.50 a	34 a	2.4 a
Sante	5.7 b	31 b	2.2 b

ns، * و **؛ به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد

ns, * and **; nonsignificant and significant at 1 and 5% level of probability, respectively.

جدول ۴- تأثیر رقم بر صفات مورفولوژیک غده‌های بذری سیب‌زمینی.

Table 4. Effect of cultivar on morphological trait of minituber of potato.

S.O.V.	df	Disease severity
P. fluorescens (A)	3	2971. 415**
Cultivar (B)	1	268. 41**
A× B	3	26. 65**
Error	16	2. 57
C.V. (%)		5. 88

تأثیر عامل بیماری بر صفات مورفولوژیک سیب‌زمینی

براساس نتایج به‌دست‌آمده (جدول ۵)، بیمارگر دارای تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک ریشه، وزن خشک استولون، وزن خشک ریزغده و تعداد استولون داشت. براساس اطلاعات مندرج در جدول ۵، در شرایط حضور بیمارگر صفات اندازه‌گیری شده موصوف با کاهش معنی‌داری روبرو شد، به‌طوری‌که وزن خشک ریشه ۲۳ درصد، وزن خشک استولون ۱۸ درصد، وزن خشک ریزغده ۲۰ درصد و تعداد استولون ۲۲ درصد نسبت به شرایط بدون حضور بیمارگر دارای کاهش معنی‌دار بود. آتکینسون و همکاران (۲۰۱۰) نیز دریافتند که عامل بیماری باعث کاهش تعداد استولون و وزن ریشه‌ها شده و از این طریق روی تعداد ریزغده‌های تولیدی و عملکرد تأثیر می‌گذارد. عامل بیماری از طریق تأثیر بر تولید گونه‌های اکسیژن رادیکال (ROS) و تحت تأثیر قراردادن فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و هم‌چنین از طریق افزایش پراکسیداسیون لیپید در جداره غشا باعث مختل شدن فعالیت و متابولیسم‌های گیاه شده و روی عملکرد و اجزای عملکرد تأثیر می‌گذارد (Shoresh *et al*., 2010; Singh, 2015).

جدول ۵ - تأثیر بیماری بر صفات مورفولوژیک غده‌های بذری سیب‌زمینی.

Table 5. Effect of *Rhizoctonia solani* on morphological trait of minituber of potato.

Pathogen	Stolon number	Tuber dry weight (g)	Stolon dry weight (g)	Root dry weight (g)
Pathogen-free	14 a	36 a	0.73 a	2.6 a
Infected with pathogen	11 b	29 b	0.60 b	2.0 b

تأثیر باکتری UTPF5 بر شاخص‌های رشد رقم سانته

به‌منظور بررسی مقایسه میانگین تیمار برتر در صفات رویشی مورد اندازه‌گیری، همان‌طور که نتایج حاصل از جدول ۶ نشان می‌دهد رقم سانته به‌همراه استفاده از باکتری P5 در اکثر صفات تیمار مطلوب بود که نسبت به شرایط شاهد بدون حضور باکتری مورد ارزیابی آماری قرارگرفت. نتایج نشان داد که ترکیب تیماری مذکور در شرایط حضور عامل بیماری به‌ترتیب در صفات وزن خشک ریشه، طول استولون، وزن خشک استولون، وزن خشک ریزغده، وزن تر ریزغده و تعداد استولون نسبت به شاهد (بدون استفاده از باکتری) دارای افزایش ۶۲، ۸۶، ۱۴۰، ۲۳۱، ۱۳۷ و ۶۳ درصدی بود. پروبیوتیک‌های گیاهی از طریق آنزیم‌های تجزیه کننده نظیر کیتیناز و پروتئاز، آنتی بیوز، پارازیتیسم، تحریک سیستم دفاعی گیاه، تحریک و تقویت رشد گیاه و هم‌چنین افزایش رشد گیاه از طریق تثبیت عناصر مغذی، تقویت میکوریزی، تنظیم تولید اتیلن در ریشه‌ها و سنتز فیتوهورمون‌ها مثل جیبرلین و ایندول استیک اسید و افزایش جذب عناصر غذایی و تشکیل بیوفیلم روی سطوح گیاهی و در نهایت استقرار مناسب باکتری برای بروز فعالیت بیوکنترلی مناسب اهمیت فراوانی دارند (Ahmadzadeh, 2014; Pieterse *et al.*, 2014).

جدول ۶ - مقایسهٔ میانگین ترکیب تیماری برتر در خصوص صفات رویشی در حضور بیمارگر.

Table 6. Effect of *Pseudomonas fluorescens* isolate on morphological trait of minituber of potato.

Treatment	Stolon dry weight(g)	Tuber number	Tuber dry weight (g)	Root dry weight (g)	Stolon length (cm)	Stolon number
T(UTPF5+Sante)	0.806 a	7.67 a	36.45 a	2.81 a	35.66 a	15.32 a
Control (Sante)	0.494 b	3.23 b	11 b	1.17 b	19.16 b	9.43 b
PI	63%	137%	231%	140%	86%	62%

PI= Percent increase compared to control

PI: درصد افزایش در مقایسه با شاهد.

شدت بیماری‌زایی

مقایسهٔ میانگین تیمارها نشان داد که بیشترین شدت بیماری شوره‌سیاه در ریزغده در شاهد و بدون حضور باکتری (۶۷ درصد آلودگی در رقم آگریا و ۶۴ درصد در رقم سانته) بود. همان‌طور که نتایج جدول ۷ نشان می‌دهد کمترین میزان شدت بیماری‌زایی در حضور تیمار باکتری P5 در رقم سانته با کاهش ۸۸ درصدی نسبت به شاهد رخ داد. محققان دریافتند که استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک می‌تواند باعث لیگنینی شدن محل آلودگی و از طرفی با فعال کردن سیستم‌های آنتی اکسیدانی باعث حذف گونه‌های اکسیژن رادیکال آزاد (ROS) شود (Pieterse *et al.*, 2014). در مورد باکتری‌های جنس سودوموناس علت کاهش بیماری را می‌توان به علت تولید سیدروفور و آنتی بیوتیک‌ها مانند فنازین کربوکسیلات، پلوتروئین، پیلوریترین، فنازین ۱-کربوکسیامید، پیوکانین، هیدروژسیامید، ویسکوزینامید دانست (Hass and Genevieve, 2005). نتایج به‌دست آمده با یافته‌های (Khedher *et al.*, 2015) که از باکتری *B. subtilis* V26 در کنترل بیولوژیک سیب‌زمینی مورد استفاده قرارگرفت مشابهت داشت.

نتایج حاصل با یافته‌های الکاهوتی و همکاران (۲۰۱۵) و آباس و همکاران (۲۰۱۷) که منجر به مهارزیستی جدایه‌های *Rhizoctonia* توسط تعدادی از جدایه‌های جنس سودوموناس و تریکودرما شده مطابقت دارد.

صفات بیوشیمیایی

فعالیت آنزیم GPX

باتوجه به نتایج مندرج در جدول ۸، در خصوص فعالیت آنزیم GPX در شرایط عدم حضور بیمارگر، تیمار UTPF5 در هر دو رقم باعث افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت این آنزیم شد، به‌طوری که بیشترین میزان فعالیت در رقم آگریا با افزایش ۱/۱۸ برابری نسبت به شاهد صورت پذیرفت. حضور بیمارگر باعث تشدید فعالیت آنزیم شد، به‌شکلی که در این تیمار، حداکثر فعالیت آنزیم GPX با افزایش ۱/۳۲ برابری نسبت به شاهد مشاهده شد.

جدول ۷- اثر جدایه‌های *Pseudomonas fluorescens* بر شدت بیماری در غده‌های بذری سیب‌زمینی.

Table 7. Effect of *Pseudomonas fluorescens* isolates on morphological trait of minituber of potato.

Cultivar	Treamtment			
	P5	P68	P96	Control
Agria	9.65% a	23.7% b	36.81% c	67% d
Sante	7.15% a	17.5% b	29.8% c	64% d

* Means bearing the same letter in a column are not significantly different (LSD, α= 0.05).

فعالیت آنزیم β-1,3-glucanase

نتایج در خصوص فعالیت آنزیم β-1,3-glucanase نشان داد که در شرایط بدون حضور بیمارگر، تیمار UTPF5 تأثیر معنی‌داری بر این صفت داشت، چرا که در هر دو رقم فعالیت آنزیم موصوف نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. البته حضور بیمارگر نیز باعث کاهش فعالیت آنزیم شد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم در شرایط حضور بیمارگر به ترکیب تیماری UTPF5 و رقم سانته (با افزایش ۱/۲۳ برابری نسبت به شاهد) تعلق داشت. از آنجائی‌که اجزای اصلی تشکیل دهنده دیواره سلولی بیمارگرهای قارچی کیتین و گلوکان می‌باشد و در بسیاری از گیاهان در پاسخ به آلودگی، فعالیت این آنزیم، القاء شده و باعث

ایجاد مقاومت می‌شود (Saikia *et al*., 2005). با توجه به نتایج به‌دست آمده نیز این استنباط وجود دارد که استفاده از تیمار UTPF5 از طریق تحریک سیستم دفاعی گیاه و افزایش آنزیم مذکور باعث کاهش خسارت شدت بیماری شد.

پرولین

درخصوص محتوی پرولین همان‌طور که اطلاعات جدول ۸ نشان می‌دهد، استفاده از باکتری UTPF5 در هر دو رقم آگریا و سانته منجر به افزایش محتوی پرولین شد. حضور بیمارگر باعث افزایش محتوی این صفت شد، به‌طوری‌که محتوی پرولین در رقم سانته و استفاده از تیمار باکتری UTPF5 دارای بیشترین میزان (افزایش ۲/۶۷ برابری نسبت به شاهد) بود. انباشت پرولین نقش بسیار مؤثری در تطابق و سازگاری گیاه با شرایط تنش دارد. نقش مهمی در تنظیم اسمز درون سلولی، پایدار کردن ساختار پروتئین و غشاء سلولی، جاروب کردن گونه‌های مختلف اکسیژن رادیکال (ROS)، تنظیم pH سلولی و واکنش‌های اکسیداسیون و احیاء دارد و ارتباط مستقیمی با سیستم‌های دفاعی گیاه در برابر پاتوژن‌ها و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی دارد و در زمان حمله بیمارگر باعث افزایش مقاومت این ساختارها در برابر حملات بیمارگر شده و از شدت خسارت بیماری می‌کاهد (Cecchini *et al.*, 2011). از نتایج این تحقیق بر می‌آید که حضور عامل بیماری‌زا که در اکثر تحقیقات باعث فعال شدن اکسیژن رادیکال آزاد می‌شود و می‌تواند سیستم مقاومتی گیاه را تحت تأثیر قرار دهد (Taheri *et al*., 2014)، در تحقیق حاضر هنگامی که از باکتری استفاده شد، فعالیت آنزیم‌های GPX و β-1,3-glucanase و مواد آنزیمی غیرآنتی‌اکسیدانی مثل پرولین افزایش یافت و همان‌طور که نتایج نشان داد تیماری که باعث افزایش محتوی پرولین شد توانست در شرایط حضور عامل بیماری باعث بهبود مولفه‌های رشدی و هم‌چنین فعالیت آنزیمی شود.

جدول ۸- تأثیر رقم و *Pseudomonas fluorescens* UTPF5 بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، محتوای پرولین و مالون دی آلدهید در غده‌های بذری سیب‌زمینی در برابر *Rhizoctonia solani*

Table 8. Effect of cultivar and *Pseudomonas fluorescens* UTPF5 on GPX and β-1,3-glucanaseactivity, proline, malondialdehyde concentration of potato minitubers in *Rhizoctonia solani*-infected condition.

Treatment	Cultivar	GPX activity, µmol guaiacol oxidized/ (min mg^{-1} protein)		β-1,3-glucanase activity mg glucose /min mg^{-1} protein		Proline content (µmol/g FW)		MDA (µmol/g FW)		Soluble sugars (mg g^{-1} DW)	
		Pathogen free	Infected with pathogen	Pathogen free	Infected with pathogen	Pathogen free	Infected with pathogen	Pathogen free	Infected with pathogen	Pathogen free	Infected with pathogen
P. fluorescens UTPF5	*Agria*	12.54 a	9.64 c	11.66 b	10.05 c	9.38 c	13.87b	4.08 d	6.96 b	48.0 d	73.33b
	Sante	10.37 b	7.83 d	9.51 c	13.92 a	10.79c	16.9 a	3.71 d	5.07 b	58.3 c	80.3 a
Control	*Agria*	5.71 e	4.32 f	3.69 e	5.74 d	5.97 d	3.57 e	3.35 d	13.33a	14.0 e	16.6 e
	Sante	5.75 e	4.15 f	3.43 e	6.24 d	2.98 e	4.60 de	3.62 d	14.2 a	16.6 e	20.3 e

پراکسیداسیون لیپید

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد پراکسیداسیون لیپید تحت تأثیر تیمار UTPF5 قرار گرفت، به‌طوری‌که کمترین پراکسیداسیون لیپید در تیمار P5 و رقم سانته (۵/۰۷ میکرومول بر وزن تر) بود که نسبت به شاهد دارای کاهش ۶۵ درصدی بود. بر اساس نتایج به دست‌آمده، استفاده از تیمار P5 توانست باعث کاهش پراکسیداسیون لیپید شود که یکی از علل آن را می‌توان به نقش مهم فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی و هم‌چنین محتوای بالای پرولین ارتباط داد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج شورش و همکاران (Shoresh *et al.*, 2010) که نشان دادند استفاده از مواد بیولوژیک می‌تواند محرّک مناسبی برای القاءشدن آنزیم‌ها از جمله منابع مورد استفاده سنتز پراکسیداز و ساز و کارهای دفاعی گیاه شده است، انطباق دارد. این آنزیم در فرایند سنتز برخی ترکیبات دفاعی از جمله پراکسید هیدروژن و لیگنینی‌شدن دیوارهٔ سلولی گیاه

دخالت دارد. هم‌چنین باعث ایجاد پل‌های عرضی هیدروکسی پرولین موجود در دیواره سلول‌های ریشه می‌شود که نتیجه آن، مقاوم‌سازی بافت‌های ریشه در برابر عامل بیمارگر است. این کارکردها نشان از اهمیت این آنزیم در فرایندهای مرتبط با واکنش‌های دفاعی گیاه دارد (Pieters *et al.*, 2014).

قند محلول

استفاده از باکتری باعث افزایش قند محلول شد به‌طوری‌که بیشترین مقدار در رقم Sante با میزان ۵۸/۳ میلی‌گرم در گرم وزن خشک (افزایش ۲/۵۱ برابری نسبت به شاهد) بود. در تیمار خاک آلوده به عامل بیماری، مقدار صفت موصوف در تیمار استفاده از باکتری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت به طوری که بیشترین مقدار در رقم Sante به میزان ۸۰/۳ میلی‌گرم در گرم وزن خشک بود که نسبت به شاهد دارای افزایش ۲/۹۵ برابری بود (جدول ۸). بالا بودن میزان قند محلول هم به افزایش سوخت و ساز گیاه کمک نموده و هم انرژی در دسترس را برای افزایش فتوسنتز فراهم می‌نماید که می‌تواند به‌طور غیرمستقیم بر تقویت گیاه در برابر شرایط حاصل از تنش نقش بسزایی داشته باشد (Shoresh *et al.*, 2010). یافته‌های ویلسون و همکاران (Wilson *et al.*, 2008) نشان داد که مواد بیولوژیک باعث کاهش تولید غده‌های ریز، افزایش وزن، تعداد و کاهش معنی‌دار شدت بیماری در ریزغده‌های تولیدی سیب‌زمینی در حضور بیماری *R. solani* می‌شود که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. نتایج مطالعات نشان داده که افزایش آلودگی، استولون و ساقه که منجر به کاهش وزن و تعداد آن می‌شود ارتباط معنی‌داری با کاهش تعداد غده‌های تولیدی دارد (Atkinson *et al.*, 2011; Brierley, 2016). در مجموع با نظر به این‌که غده سیب‌زمینی در انتهای استولون پس از تورم آن و ورود به فاز غده‌زایی شکل می‌گیرد، هر عاملی که زمینه‌ساز افزایش تعداد استولون و افزایش وزن خشک شود به عنوان گزینه مناسب در راستای افزایش تعداد و وزن ریزغده‌های تولیدی خواهد بود. استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک باعث کنترل بیماری در سیب‌زمینی شد که در نتیجه سبب افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپید شد؛ وجود سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی به‌ویژه آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)، β-1,3-glucanase و نظایر آن که نقشی اساسی در تقویت دیواره سلولی داشته و باعث تحریک سیستم ایمنی گیاه (از جمله مسیرهای القای مقاومت) می‌شوند و از طرفی کاهش پراکسیداسیون لیپیدها را به‌همراه دارند، از دیگر عوامل مهم در کنترل بیماری می‌باشند (Małolepsza *et al.*, 2017). باکتری‌های جنس *Pseudomonas* محرک مناسبی برای القاء شدن یک‌سری از آنزیم‌ها از جمله منابع مورد استفاده سنتز پراکسیداز و ساز و کارهای دفاعی گیاه می‌شود.

نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک تأثیر به‌سزایی در کنترل قارچ *R. solani* دارد. ترکیب تیماری P5 و رقم سانته تأثیرگذارترین تیمار در کنترل بیماری بود و در سایر شاخص‌های گیاهی و هم‌چنین تولید غده‌های بذری هم تأثیر معنی‌دار و محسوسی داشت. نتایج این تحقیق می‌تواند در خصوص تولید بذور با کیفیت بیشتر با استفاده از عوامل کنترل‌کننده زیستی و ارتقای شاخص‌های سلامت بذر بسیار تأثیرگذار و مفید باشد.

References

Ahmadzadeh, M. 2014. Biological Control of Plant Diseases Plant Probiotic Bacteria. 2nd ed. University of Tehran (In Persian).

Anonymous, 2017. Crop statistics. Office of static and information technology, assistant planning and economy of Ministry of Agriculture.

Antoun, H. & Kloepper, J.W. 2001. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), In: Brenner, S. & Miller, J.H., (eds.), Encyclopedia of Genetics. Academic Press, N.Y.

Arabiat, S.I. & Khan, M. 2014. Sensitivity of *Rhizoctonia solani* to Fungicides. Oral Technical Session: Disease Control and Pest Management. 2014. APS-CPS Joint Meeting, August 9-13, Minneapolis, Minnesota, USA.

Atkinson, D., Thornton, M.K. & Miller, J.S. 2011. Development of *Rhizoctonia solani* on stems, solon and tubers of Potato II. Efficacy of chemical applications. American Journal of Potato Research, 88: 96–103.

Bates, L.S. Waldren, R.P. & Teare, L.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress tudies. Plant and Soil, 39: 205–207.

Behdad, A. 2010. Plant Disease. Publication Neshat of the University of Isfahan (In Persian).

Brewer, M.T. & Larkin, R.P. 2005. Efficacy of several potential biocontrol organisms against Rhizoctonia solani on potato. Crop Protection, 24: 939–950.

Brierley, J.L., Hilton, A. J., Wale, S.J., Woodhall, J.W. & Lees, A.K. 2016. The Relative importance of seed- and soil-borne inoculum of *Rhizoctonia solani* AG-3 in causing black scurf on Potato. Potato Research, 59:181–193.

Cecchini,N.M., Monteoliva, M.I. & Alvarez, M.E. 2011. Proline dehydrogenase contributes to pathogen defense in Arabidopsis. Plant Physiol, 155: 1947–1959.

Dionisio-Sese, M.L. & Tobita, S. 1998. Antioxidant responses of Rice seedlings to salinity stress. Plant Science, 135: 1–9.

Du, Z. & Bramlage, W.J. 1992. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. Journal of Agricaltural Food Chemestry, 40: 1566–1570.

Elkahoui, S., Dje´bali, N., Yaich, N., Azaiez, S., Hammami, M., Essid, R. & Limam F. 2015. Antifungal activity of volatile compounds-producing *Pseudomonas* P2 strain against *Rhizoctonia solani*. World Journal Microbiology Biotechnology, 31: 175–185.

Gutierrez-Manero, F.J., Ramos-Solano, B., Probanza, A., Mechouachi, J., Tadeo, F.R. & Talon, M. 2001. The plant-growth-promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amount of physiologically active gibberellins. Physiology Plant, 111: 206–211.

Haas, D. & Geneviève, D. 2005. Biological control of soil-borne pathogens by *Pseudomonas fluorescent*. Nature Reviews Microbiology, 3: 307–19.

Heath, R.L. & Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: Kinetics an stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archive Biochemistry Biophysics, 125: 189–198.

Hooker, W.J. 1983. Research for the potato in the year 2000. CIP Lima, Peru.

Khedher, S.B., , Kilani-Feki, O., Dammak, M., Jabnoun-Khiareddine, H., Daami-Remadi, M. & Tounsi, S. 2015. Efficacy of *Bacillus subtilis* V26 as a biological control agent against *Rhizoctonia solani* on potato. Plant biology and pathology, 338: 784–792.

Kumar, S.S., Krishna Rao, M.R., Deepak Kumar, R., Panwar, S. & Prasad, C.S. 2013. Biocontrol by plant growth promoting rhizobacteria against black scurf and stem canker disease of potato caused by *Rhizoctonia solani*. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 46: 487–502.

Larkin, P.R. 2016. Impacts of biocontrol products on *Rhizoctonia* disease of potato and soil microbial communities, and their persistence in soil. Crop Protection, 90: 96–105.

Małolepsza, U., Nawrocka, J. & Szczech, M. 2017. *Trichoderma virens* 106 inoculation stimulates defence enzyme activities and enhances phenolic levels in tomato plants leading to lowered *Rhizoctonia solani* infection. Biocontrol science and technology, 27: 180–199.

Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for the determination of reducing sugar. Analytical Biochemistry, 31: 426–428.

Patten, C.L. & Glick, B.R.. 2002. The role of bacterial indolacetic acid in the development of the host plant root system. Applied and Environmental Microbiology, 68: 3795–3801.

Pieterse, C.M.J., Zamioudis, C., Berendsen, R.L., Weller, D.M., VanWees, S.C.M. & Bakker, P.A.H.M. 2014. Induced systemic resistance by beneficial microbes. Annual Review of Phytopathology, 52: 347–75.

Piromyou, P.B. Buranabanyat, B., Tantasawat, Tittabutr, P. Boonkerd, N. & Teaumroong, N. 2011. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on microbial community structure in rhizosphere of forage corn cultivated in Thailand. European Journal of Soil Biology, 47: 44–54.

Saikia, R., Pratab Singh, B., Kumar, R., and Arora, K. 2005. Detection of pathogenesis-related proteinschitinase and β-1,3-glucanasein induced chickpea. Current Science 89(4): 659–663.

Sheligl, H.Q. 1986. Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht. Planta Journal, 47–51.

Shoresh, M. Harman, G.E. & Mastouri, F. 2010. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. The Annual Review Annual Review of Phytopathology, 48: 21–43.

Singh, S.P., Gupta, R., Gaur, R. & Srivastava, A.K. 2015. *Streptomyces* spp. alleviate *Rhizoctonia solani*-mediated oxidative stress in *Solanum lycopersicon*. Annals of Applied Biology, 168: 232–242.

Taheri, P., Irannejad, A., Goldani, M. & Tarighi, S. 2014.- Oxidative burst and enzymatic antioxidant systems in rice plants during interaction with *Alternaria alternata*. European Journal of Plant Pathology, 140: 829–839.

Vessey, J. K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant Soil, 255: 571–586.

Weller, D. M. & Cook, R. J. 1983. Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent Pseudomonas. Phytopathology, 78: 463–469.

Wilson, P.S., Ketola, E.O., Ahvenniemi, P.M., Lehtonen, M.J. & Valkonen, J.P.T. 2008. Dynamics of soilborne *Rhizoctonia solani* in the presence of *Trichoderma harzianum*: effects on stem canker, black scurf and progeny tubers of potato. Plant Pathology, 57: 152–161.

Effects of *Pseudomonas fluorescens* on the disease severity, physiological, and biochemical traits in the tubers of potato cultivars infected with *Rhizoctonia solani* under greenhouse conditions

Mohammad Entesari[1], Behnam Kamkar*[1], Farshid Ghaderifar[1], Masoud Ahmadzadeh[2]

1. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

2. College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

*Corresponding author: Behnam Kamkar, email: behnam.kamkar@gmail.com

Received: Oct., 28, 2017 5 (2) 43-54 Accepted: Jun., 25, 2018

Abstract

To evaluate the effects of *Pseudomonas fluorescens* on potato production in the presence of *Rhizoctonia solani*, a three replicated greenhouse experiment was conducted in a completely randomized factorial design containing three strains of *Pseudomonas fluorescens* including UTPF5 (P5), *P. fluorescens* UTPF68 (P68) and *P. fluorescens* UTPF74 (P74), *Rhizoctonia solani* AG3 and *Agria* and *Sante* cultivars of potato provided by the seed and plant certification and registration institute. Disease severity, root dry weight, stolon length and dry weight, tubers number, dry weight and fresh weight, Antioxidant activity (GPX, β-1, 3-glucanase), proline content, MDA and soluble sugar content were determined in different treatments. The results showed that *Pseudomonas fluorescens* treatment had a significant effect on all traits in the presence of fungus (pathogen-infected condition). The fungal virulence was also significantly decreased in this treatment compared to the control. P5 and *Sante* variety combined treatment showed highly significant effect on the measured traits than the other combined treatments, so that the highest amounts of dry weight of root, stolon length and dry weight, tubers dry and fresh weight and the number of stolon were observed in this treatment with 0.62, 0.86, 1.40, 2.31, 1.37 and 0.63 folds increase respectively compared to the control. Results also indicated that in P5 treatment Antioxidant enzyme activity, (GPX, β-1, 3-glucanase), proline and soluble sugar content were increased by 1.32, 0.61, 2 and 2.6 and folds respectively and lipid peroxidation was decreased by 53% in comparison with the control.

Keywords: biological control, potato, *Rhizoctonia solani*, induction