

## بررسی کنترل بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی سیب زمینی بوسیله بازامید گرانولیت در شرایط آزمایشگاه و گلخانه

جهانشیر امینی

دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، (jamini@uok.ac.ir)

تاریخ پذیرش: ۹۴/۴/۱۵

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۱/۲۰

### چکیده

بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی سیب زمینی یکی از مهمترین بیماریهای خاکزاد سیب زمینی است و خسارت آن در اغلب مناطق قابل توجه می‌باشد. در این تحقیق امکان کنترل این بیماری توسط ماده بازامید گرانولیت (Dazomet 98%) در شرایط آزمایشگاه و گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. این ماده را به مقدار ۲۶۶، ۳۳۳ و ۴۰۰ گرم در متر مکعب به خاک گلدانها اضافه و خواص قارچکشی آن بر علیه بیماری مذکور مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایشات در هر دو محیط آزمایشگاه و گلخانه نشان داد که بازامید گرانولیت به مقدار ۴۰۰ گرم در متر مکعب مانع از رشد کامل پرگنه قارچ روی محیط کشت و انهدام کلیه اندامهای قارچ بیمارگر، بخصوص اسکلرت در خاک گردید. میزان شدت بیماری و تغییر رنگ آوندها در این تیمار مشابه با تیمار کنترل به صفر کاهش یافت. کلیه تیمارها در آزمون دانکن در سطح ۱٪ دارای اختلاف معنی دار بودند. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که بازامید گرانولیت علاوه بر ایمن و ارزان بودن، می‌تواند جایگزین خوبی برای سایر سموم تدخینی پرخطر در کنترل عوامل بیماریزای خاکزاد از جمله پژمردگی ورتیسیلیومی سیب زمینی باشد.

**کلید واژه‌ها:** سیب زمینی، بازامید گرانولیت، پژمردگی ورتیسیلیومی

*V. albo-* و *Verticillium dahliae* (Kleb)

*atrum* ایجاد می‌شود. گونه *V. dahliae* بر خلاف گونه دوم با تولید میکرواسکلرت می‌تواند بیش از ده سال دوام و بقاء خود را در خاک حفظ نماید. اسکلرت‌ها در اثر ترشحات ریشه گیاه میزبان فعال و ریشه گیاه میزبان را آلوده و از طریق آوند های گیاه وارد ساقه گیاه شده و باعث مرگ آوند ها می‌گردند (جانسون و همکاران<sup>۳</sup>، ۲۰۱۳؛ اولسن و همکاران<sup>۴</sup>، ۲۰۱۴). میزان ۲۰-۵ عدد از اسکلرت قارچ در هر گرم خاک خشک می‌تواند بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی را ایجاد نماید (زایوپینگ و همکاران<sup>۵</sup>، ۲۰۱۳).

### مقدمه

سیب زمینی (*Solanum tuberosum* L.)

چهارمین محصول غذایی مردم دنیا بعد از گندم، برنج، ذرت، و مهمترین منبع غذایی بشر در اکثر کشورها است (دجاردین و همکاران<sup>۱</sup>، ۱۹۹۵). سطح زیر کشت این محصول در دنیا در حدود ۲۲ میلیون هکتار و تولید سالیانه در حدود ۳۲۱ میلیون تن است. در ایران سطح زیر کشت ۱۴۰ هزار هکتار و تولید سالیانه ۳/۵ میلیون تن است (نراقی و همکاران<sup>۲</sup>، ۲۰۱۰).

از مهمترین بیماریهای سیب زمینی که خسارت زیادی به این محصول وارد می‌کند، بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی سیب زمینی است که توسط دو گونه قارچ

3 - Johnson *et al.*  
4 - Olesen *et al.*  
5 - Xiaoping *et al.*

1 - Desjardins *et al.*  
2 - Naraghi *et al.*

آن در تعدادی از کشورها به دلایل ذکر شده محدود شده است (اکوپرو و دمیر<sup>۱۰</sup>، ۲۰۰۵؛ فرادین و توما<sup>۱۱</sup>، ۲۰۰۶). ماده بازامید گرانولیت یک جایگزین مناسب برای کنترل عوامل بیماریزای خاکزاد مثل قارچ‌ها، باکتری‌ها، نماتدها و حتی بذر علف‌های هرز است (دانیل و مارتین<sup>۱۲</sup>، ۲۰۰۱؛ پارک و لاند سکوت<sup>۱۳</sup>، ۲۰۰۳؛ آش چنولف<sup>۱۴</sup>، ۲۰۰۱). کاربرد بازامید گرانولیت جهت تدخین خاک موجب حذف عوامل بیماریزای خاکزاد مثل *Fusarium spp.*, *Pythium*, *Rhizoctonia spp.* و *Phytophthora spp.* می‌شود (امینی<sup>۱۵</sup>، ۲۰۰۷).

بازامید به صورت میکروگرانول فرموله شده و در اثر رطوبت خاک فعال شده و گاز (Methyl Iso-thio- MITC Cyanate) تولید می‌کند که روی عوامل بیماریزای خاکزاد، کنه‌ها و بذر علف‌های هرز تاثیر گذاشته و باعث مرگ آن‌ها می‌گردد (شل مک<sup>۱۶</sup>، ۲۰۰۱). میزان خسارت بیماری در مزارع شهرستان‌های دهگلان و قروه در استان کردستان توسط کادر اندازی بین ۴۰-۷ درصد برآورد شده است (امینی، ۱۳۸۶).

هدف از اجرای این تحقیق بررسی امکان کنترل بیماری پژمردگی ورتیسلیومی سیب زمینی با استفاده از قارچکش Basamid-granulat در شرایط آزمایشگاه و گلخانه است.

### مواد و روش‌ها

#### جدایه قارچ و ارقام گیاه

در این تحقیق جدایه های قارچ بیمارگر شامل دو گونه *Verticillium* و *Verticillium dahlia* و *albo-atrum* که بیماریزایی آن‌ها به اثبات رسیده بود از کلکسیون گروه گیاهپزشکی دانشگاه کردستان تهیه

این بیماری خاکری، دارای گسترش جهانی بوده و به اکثر محصولات زراعی مثل کاهو، توت فرنگی، گوجه فرنگی، کتان، هندوانه، اسفناج و سیب زمینی خسارت وارد می‌کند (اولسن و همکاران، ۲۰۱۴؛ بیلود او و همکاران<sup>۱</sup>، ۲۰۱۲؛ دیویس و همکاران<sup>۲</sup>، ۲۰۱۰؛ اتالا و همکاران<sup>۳</sup>، ۲۰۱۱؛ زیا او و همکاران<sup>۴</sup>، ۱۹۹۷). خسارت بیماری روی محصول سیب زمینی در جهان و ایران در مناطق دارای آب و هوای گرم زیاد و بیشتر مربوط به کم شدن تعداد و اندازه حجم غده های سیب زمینی می‌باشد (اوپال و همکاران<sup>۵</sup>، ۲۰۰۸؛ امینایی و همکاران<sup>۶</sup>، ۲۰۰۶). منصوری در سال ۱۳۷۳ هر دو گونه قارچ ورتیسلیوم یعنی *V. dahliae* و *Verticillium albo-atrum* را از مناطق سیب زمینی کاری از استان فارس جدا و گزارش نمود (منصوری، ۱۳۷۳).

کنترل بیماری پژمردگی ورتیسلیومی بدلیل استقرار قارچ در داخل آوند های گیاه مشکل بوده، زیرا بیمارگر از تاثیر قارچکش‌ها در داخل آوند‌ها دور مانده و یا اینکه کاربرد سموم سیستمیک روی اندامهای هوایی گیاهان بدلیل وجود اسکلت قارچ در خاک محدود و مقرون به صرفه و عملی نیست (تابت یانگویی و همکاران<sup>۷</sup>، ۲۰۱۰). استفاده از روش‌های فیزیکی مثل آفتاب دهی خاک و تزریق بخار آب داغ به داخل خاک بدلیل تجمع مواد محلول در خاک و افزایش سمیت آن محدودیت های خود را دارد (سالس و همکاران<sup>۸</sup>، ۲۰۰۱؛ بیلو و همکاران<sup>۹</sup>، ۲۰۰۱). علاوه بر این، کاربرد متیل بروماید علیه عوامل بیماریزای خاکزاد بدلیل مشکلات زیست محیطی و مضرات آن برای انسان و دام و گرانی هزینه آن جایز و مقرون به صرفه نبوده و مصرف

1 - Bilodeau *et al.*

2 - Davis *et al.*

3 - Atallah *et al.*

4 - Xiao *et al.*

5 - Uppal *et al.*

6 - Aminaee *et al.*

7 - Thabet Yangui *et al.*

8 - Salles *et al.*

9 - Bello *et al.*

10 - Akkopru & Demir

11 - Fradin & Thomma

12 - Daniel & Martin

13 - Park & Landschoot,

14 - Ashcheulov

15 - Amini

16 - Shelemekh *et al.*

های *V. albo-atrum* و *V. dahlia* به ارلن های حاوی گندم و ساقه اتوکلاو شده اضافه گردید. ارلن ها دو هفته در انکوباتور با دمای ۲۴ درجه سانتیگراد نگهداری شدند و هر چند روز یکبار تکان داده شد تا مایه تلقیح درون ارلن ها بصورت توده بهم نچسبند.

روش سوم: تهیه و تولید میکرواسکلرت: الف) قارچ *V. dahliae* روی محیط کشت PDA در تشتک پتری کشت و یک لایه سلوفان سترون (با قطر تقریباً ۶۰۰ میکرومتر) روی آن قرار گرفت و ظروف کشت در دمای ۲۴-۲۰ درجه سانتی گراد در تاریکی برای مدت پنج هفته نگهداری گردید. بعد از این مدت میکرواسکلرت های تشکیل شده روی محیط کشت جمع آوری و به آب مقطر سترون منتقل شدند. مخلوط میکرواسکلرت ها را بترتیب از الک های یک میلی متری، ۱۲۵ مش و ۳۸ مش ریخته و بقایای روی الک های ۳۸ و ۱۲۵ مش جمع آوری و با آب مقطر سترون شستشو داده و در معرض هوا در شرایط زیر هود خشک شدند (گروندن و همکاران، ۲۰۰۱).

ب) روش بعدی تهیه میکرواسکلرت به صورتی بود که ابتدا غده های سیب زمینی سترون شده را به قطعات کوچک تقسیم و آنها را در پتری دیش ها توزیع، روی آنها اسپور ورتیسلیوم تلقیح و پتری دیش ها در دمای ۲۴-۲۰ درجه سانتی گراد در تاریکی قرار گرفت. بعد از دو هفته اسکلرت های تشکیل شده از قطعات سیب زمینی جدا و در آب مقطر سترون جمع آوری و به روش بالا الک و خالص سازی و سرانجام خشک گردیدند. روش دوم بدلیل اینکه اسکلرت روی غده های سیب زمینی تولید می گردد به شرایط طبیعی نزدیکتر و کمتر تحت شرایط نامطلوب محیط کشت قرار گرفته و توان بیماریزایی آن ها بهتر حفظ می گردد.

گردید. همچنین رقم سیب زمینی اگریا (Agria) که حساسیت آن به قارچ بیمارگر به اثبات رسیده بود از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کردستان تهیه شد.

### تهیه مایه تلقیح قارچ بیمارگر

در شرایط *In vitro*، برای تهیه مایه تلقیح قارچ بیمارگر (میسیلیوم، اسپور، اسکلرت) به سه روش زیر عمل شد:

روش اول: هر دو گونه قارچ خالص سازی شده که قبلاً در دمای یخچال نگهداری شده بود روی محیط غذایی (CDX) Czapek-Dox agar حاوی ۱۰۰ پی پی ام سولفات استریتومايسين کشت شدند. پس از گذشت یک هفته از حاشیه پرگنه فعال قارچی، چهار حلقه پنج میلی متری جدا و به ارلن های حاوی محلول غذایی سیب زمینی-دکستروز سترون (بدون آگار) اضافه گردید. ارلن ها را روی دستگاه لرزان با ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ده شبانه روز در دمای ۲۶-۲۴ درجه سانتی گراد و نور طبیعی قرار داده شد. سپس عصاره محیط کشت به وسیله گاز سترون متشکل از چهار لایه صاف و میسیلیوم آن از عصاره جدا شد. همچنین با استفاده از لام اسپور شمار غلظت اسپورهای آن تعیین و با استفاده از آب مقطر سترون غلظت سوسپانسیون اسپور در حدود  $10^6 \times 4$  اسپور در میلی لیتر (cfu/ml) تنظیم شد (صانعی و همکاران، ۱۳۸۳).

روش دوم: در حدود ۲۵۰ گرم دانه گندم و ساقه خشک سیب زمینی داخل ارلن نیم لیتری ریخته شد و پس از اضافه کردن ۱۵۰ میلی لیتر آب مقطر به ارلن، به مدت ۲۴ ساعت نگهداری گردید تا آب در بذر و ساقه نفوذ کند. سپس درب ارلن ها با پنبه و فویل آلومینیوم پوشانده شد و دو بار، هر بار به مدت ۳۰ دقیقه درون اتوکلاو و به فاصله ۲۴ ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار ۱/۵ اتمسفر سترون گردید. بعد از خارج کردن ارلن ها از اتوکلاو و سرد شدن آنها، تحت شرایط سترون زیر هود، قطعاتی از حاشیه کشت ۷ روزه جدایه

شد. در آزمایش مربوط به گونه *V. dahliae* علاوه بر اضافه کردن ۲۰ میلی لیتر اسپور قارچ به خاک، میزان پنج میکرواسکلرت در هر گرم خاک نیز اضافه گردید. بعد از ۲۴ ساعت قارچکشی بازامید گرانولیت به مقدار صفر، ۲۶۶، ۳۳۳، و ۴۰۰ گرم در متر مکعب به روش ذکر شده در بالا به خاک گلدانهای آلوده به قارچ عامل بیماری اضافه و پس از آبیاری روی گلدانها بوسیله نایلون از جنس پلی اتیلن پوشانده شد. بعد از ده روز نایلون روی گلدانها برداشته شد و ۷۲ ساعت بعد از عمل تهویه و گاز زدایی، غده های رقم آگریا حساس به قارچ عامل پژمردگی ورتیسلیومی سیب زمینی در خاک گلدانهای مذکور کشت گردید. غده های سیب زمینی قبل از کاشت در خاک با هیپوکلریت سدیم ده درصد به مدت سه دقیقه ضدعفونی و سپس سه بار با آب مقطر سترون شستشو داده شد. غده ها در حدود ۴۰-۵۰ گرم وزن و دارای حداقل دو چشم جوانه بودند. سپس گلدانها به گلخانه با درجه حرارت ۱۵-۱۸ در شب و ۲۴-۲۸ درجه سانتی گراد و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل گردید.

#### جداسازی اندامهای قارچ بیمارگر از خاک

در پایان آزمایش و بعد از اندکس بیماری، وجود یا عدم وجود اندامهای قارچ بیمارگر و برآورد جمعیت آن در وزن خاک گلدانهای سالم و آلوده بررسی گردید. برای این کار در حدود پنج گرم از خاک هر گلدان و در مجموع ۲۵ گرم از خاک هر تیمار توزین شد (هر تیمار شامل پنج تکرار). نمونه های خاک در هر تیمار در شرایط آزمایشگاه در داخل تشتک پتری خشک و در هاون چینی پودر گردید. سپس یک گرم نمونه خاک پودر شده در هر تیمار توزین و به لوله آزمایش حاوی ده میلی لیتر آب مقطر سترون اضافه گردید. لوله های آزمایش به مدت یک دقیقه روی دستگاه شیکر لوله قرار داده و از طریق رقت سازی سوسپانسیونی به رقت  $10^3$  تهیه گردید. از این سوسپانسیون یک میلی لیتر در روی محیط کشت سترون Czapek-Dox agar داخل

#### ارزیابی تاثیر بازامید گرانولیت روی رشد پرگنه قارچ بیمارگر در شرایط آزمایشگاه

مقدار دو گرم از میسلیم صاف شده در روش اول و مقدار دو گرم از بذر گندم حاوی قارچ در روش دوم و پنجاه میکرواسکلرت در روش سوم لای پارچه ای از جنس اکریل پیچیده شد و در خاک گلدان، حاوی بازامید گرانولیت به مقدار صفر، ۲۶۶، ۳۳۳، و ۴۰۰ گرم در متر مکعب در عمق ۱۵-۱۰ سانتی متری خاک در وسط گلدانها قرار داده شد. به وسط پارچه های حاوی قارچ، نخ به طول ۴۰-۳۰ سانتی متر وصل گردید و یک سر آن به کناره گلدان روی سطح خاک متصل گردید. سپس گلدانها آبیاری و روی آنها با پلاستیک از جنس پلی اتیلن پوشانده شد. پس از ده روز پارچه های حاوی اینوکولوم قارچ از داخل خاک خارج و آنها را روی محیط کشت PDA جهت مطالعه تاثیر ماده بازامید کشت داده شد (سلاوسارکی و پیتر<sup>۱</sup>، ۲۰۰۹). پنج و هشت روز بعد از کشت، قطر کلنی قارچ عامل بیماری اندازه گیری شد. سپس مساحت پرگنه قارچ محاسبه و درصد کاهش رشد در مقایسه با شاهد محاسبه گردید. درصد های بدست آمده با استفاده از فرمول  $\% \sqrt{\text{Arcsin}}$  تبدیل به اعدادی گردید که به توزیع نرمال نزدیکتر باشند و سپس اعداد بدست آمده در محاسبات آماری منظور گردید (لیتل و هیل<sup>۲</sup>، ۱۹۷۸).

#### ارزیابی تاثیر بازامید گرانولیت روی بیماری پژمردگی ورتیسلیومی سیب زمینی در شرایط گلخانه

در شرایط گلخانه *In vivo* به منظور تاثیر قارچکشی بازامید گرانولیت روی اندامهای قارچ بیمارگر در داخل خاک، اینوکولوم قارچ عامل بیماری (اسپور و اسکلرت) به روش مذکور تهیه گردید. بیست میلی لیتر از اینوکولوم قارچ به غلظت  $10^6$  اسپور در هر میلی لیتر به خاک گلدانها (قطر ۲۰ و ارتفاع ۱۵ سانتی متر) اضافه

قارچ عامل بیماری در خاک نگردید، در صورتیکه مقدار ۴۰۰ گرم بازامید در مترمکعب، باعث مرگ کامل قارچ عامل بیماری در خاک گردید و قارچ پس از هشت روز هیچ گونه رشدی بر روی محیط کشت PDA نداشت. درصد بازدارندگی رشد کلنی قارچ *V. dahliae* بعد از هشت روز در تیمارهای ۲۶۶، ۳۳۳ و ۴۰۰ گرم بازامید در متر مکعب بترتیب ۴۷/۳، ۹۲/۲ و ۱۰۰ درصد بود، این مقدار برای *V. albo-atrum* بترتیب ۵۱/۵، ۹۳ و ۱۰۰ درصد بود. مصرف ۲۶۶ و ۳۳۳ گرم بازامید در متر مکعب باعث جلوگیری از رشد کامل قارچ در خاک نشد، هر چند درصد بازدارندگی هر دو غلظت از رشد قارچ قابل توجه بود (جدول ۱).

همچنین در تیمار شاهد مایه قارچ درون پارچه های دفن شده در خاک پس از هشت روز روی محیط کشت PDA بخوبی رشد کرد و تمام فضای پتری دیش را پر کرد یعنی درصد بازدارندگی رشد قارچ در غیاب ماده بازامید صفر بود (جدول ۲). کلیه تیمارها در آزمون دانکن در سطح ۱٪ دارای اختلاف معنی دار بودند.

نتایج آزمایشات گلخانه ای نیز نتایج آزمایشات بالا را تایید کرد، بطوریکه کاربرد مقدار ۴۰۰ گرم بازامید در متر مکعب در خاک باعث مرگ کامل هر دو گونه قارچ *Verticillium* در خاک شد و وزن غده های سیب زمینی در خاک محتوی ۴۰۰ گرم بازامید و قارچ عامل بیماری با غده های تیمار شاهد (کنترل آب) تفاوت معنی داری نداشت. در صورتی که کاربرد بازامید به مقدار ۲۶۶ و ۳۳۳ گرم در خاک در متر مکعب باعث کنترل کامل بیماری نشدند، با وجود اینکه شدت بیماری در آنها نسبت به شاهد (فقط بیمارگر) کمتر بود (جدول ۲). همچنین در تیمار شاهد در غیاب ماده بازامید، اندکس بیماری برای دو گونه *V. dahliae* و *V. albo-atrum* بترتیب برابر با ۲/۷ و ۲/۴ بود و وزن غده های سیب زمینی در تیمار کنترل آب و تیمار ۴۰۰ گرم در متر مکعب ۳/۵ برابر بیشتر از تیمار کنترل پاتوژن بود (جدول ۲).

تشتک پتری ریخته و توسط یک میله شیشه ای بطور یکنواخت روی سطح محیط غذایی پخش گردید. تشتک ها در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد تا ظهور پرگنه قارچ نگهداری شدند. بعد از شش روز پرگنه ظاهر و تعداد هر کلنی در هر گرم خاک شمارش و محاسبه شد.

### ارزیابی بیماری

شدت بیماری دو ماه بعد از کاشت و تلقیح غده های سیب زمینی بر اساس شاخص ۰-۳ انجام شد: ۰، بدون هیچ گونه علائم بیماری؛ ۱، مقدار کمی زردی در برگهای قدیمی؛ ۲، زردی در کل برگ ها به همراه کمی نکروز در آوندها و پژمردگی؛ ۳، پژمردگی شدید یا مرگ بوته ها (اسپینک و رو، ۱۹۸۹).

همچنین شدت تغییر رنگ آوندها در ساقه سیب زمینی بر اساس شاخص ۰-۵ ارزیابی گردید: ۰، بدون هیچ گونه علائم؛ ۱، تغییر رنگ کمتر از ده درصد آوند در برش عرضی ساقه؛ ۲، تغییر رنگ بین ۱۰-۲۴ درصد؛ ۳، تغییر رنگ بین ۲۵-۴۹ درصد؛ ۴، تغییر رنگ بین ۷۴-۵۰ درصد؛ ۵، تغییر رنگ بین ۷۵-۱۰۰ درصد (اوپال و همکاران، ۲۰۰۸).

سرانجام در پایان آزمایش پس از برداشت غده های سیب زمینی، میانگین وزن غده ها در هر تیمار اندازه گیری و با روشهای آماری مورد مقایسه قرار گرفت.

### تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی با پنج تکرار انجام شد. هر تکرار شامل یک گلدان و در هر گلدان یک غده متوسط سیب زمینی کشت گردید. داده ها با نرم افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن انجام گردید.

### نتایج و بحث

نتایج آزمایش در شرایط آزمایشگاهی نشان داد که اضافه کردن بازامید در مقدار ۲۶۶ و ۳۳۳ گرم در متر مکعب به خاک باعث حذف کامل میسلیموم و اسکلت

امینی: بررسی کنترل بیماری پژمردگی ورتیسلیومی سیب...

جدول ۱- درصد بازداری از رشد پرگنه قارچ *Verticillium* توسط بازامید گرانولیت در شرایط آزمایشگاه

درصد بازداری از رشد پرگنه قارچ				بازامید گرانولیت
<i>V. albo-atrum</i>		<i>V. dahliae</i>		
بعد از هشت روز	بعد از پنج روز	بعد از هشت روز	بعد از پنج روز	
۵۱/۵ ± ۲/۰۲ a	۴۲/۰ ± ۱/۱۵ a	۴۷/۳ ± ۱/۶۲ a	۳۸/۰ ± ۰/۵۸ a	۲۶۶gr/m <sup>3</sup>
۹۳/۰ ± ۱/۵۲ b	۹۱/۵ ± ۲/۱۷ b	۹۲/۲ ± ۲/۱۳ b	۸۹/۰ ± ۰/۵۸ b	۳۳۳gr/m <sup>3</sup>
۱۰۰/۰ ± ۰ c	۱۰۰/۰ ± ۰ c	۱۰۰/۰ ± ۰ c	۱۰۰/۰ ± ۰ c	۴۰۰gr/m <sup>3</sup>

اعداد متن جدول، میانگین سه تکرار هستند که پس از تبدیل با فرمول  $Arc\ sin\ \sqrt{\%}$  بوسیله آزمون Duncan's test در سطح ۱٪ مقایسه صورت گرفت. تیمارهای که با حروف مختلف نشان داده شده با هم اختلاف معنی دار داشتند.

جدول ۲- تاثیر قارچکش بازامید گرانولیت روی ضد عفونی خاک آلوده به *Verticillium*، ۷۵ روز بعد از کاشت غده های سیب زمینی در گلخانه

تیمارها	شدت بیماری	شدت تغییر رنگ آوند	وزن غده ها در هر تیمار (گرم)
کنترل آب	۰ ± ۰ a	۰ ± ۰ a	۴۲۰/۰ ± ۲/۴۲ f
کنترل <i>V. dahliae</i>	۲/۷ ± ۰/۰۹ g	۲/۴ ± ۰/۰۱ f	۱۱۶/۰ ± ۱/۹۲ a
کنترل <i>V. albo-atrum</i>	۲/۴ ± ۰/۰۴ f	۲/۱ ± ۰/۰۴ e	۱۲۵/۰ ± ۱/۱۸ a
Vd <sup>1</sup> + بازامید گرانولیت (۲۶۶ gr/m <sup>3</sup> )	۱/۵ ± ۰/۰۳ e	۱/۳ ± ۰/۰۱ d	۲۴۰/۰ ± ۴/۷۴ b
Va <sup>2</sup> + بازامید گرانولیت (۲۶۶ gr/m <sup>3</sup> )	۱/۱ ± ۰/۰۳ d	۰/۹ ± ۰/۰۴ c	۲۶۲/۰ ± ۸/۳۹ c
Vd + بازامید گرانولیت (۳۳۳ gr/m <sup>3</sup> )	۰/۵ ± ۰/۳۱ c	۰/۲ ± ۰/۰۱ b	۳۷۳/۰ ± ۱/۴۶ d
Va + بازامید گرانولیت (۳۳۳ gr/m <sup>3</sup> )	۰/۳ ± ۰/۰۴ b	۰/۱ ± ۰/۰۳ b	۳۸۵/۰ ± ۲/۸۸ e
Vd + بازامید گرانولیت (۴۰۰ gr/m <sup>3</sup> )	۰ ± ۰ a	۰ ± ۰ a	۴۳۴/۰ ± ۲/۸۸ g
Va + بازامید گرانولیت (۴۰۰ gr/m <sup>3</sup> )	۰ ± ۰ a	۰ ± ۰ a	۴۱۶/۰ ± ۲/۴۵ f

اعداد متن جدول، میانگین پنج تکرار هستند که بوسیله آزمون کمترین اختلاف معنی دار (L.S.D) در سطح ۵٪ مقایسه صورت گرفت و بین تیمارها با شاهد اختلاف معنی دار مشاهده شد. 1= *V. dahlia*; 2= *V. albo-atrum*

ورتیسلیومی گوجه فرنگی و سیب زمینی در شرایط آزمایشگاه و گلخانه گردید (سیرولی<sup>۱</sup>، ۲۰۰۱؛ سومینو و همکاران<sup>۲</sup>، ۲۰۰۱).

در پایان آزمایش دوباره قارچ ورتیسلیوم از ساقه و ریشه و خاک تیمار شاهد (بدون کاربرد بازامید) جداسازی گردید، ولی در تیماری که ماده بازامید به مقدار ۴۰۰ گرم در متر مکعب به خاک اضافه شده بود هیچ اندام قارچی از ساقه و ریشه گیاهان و حتی اسکلت از خاک درون گلدان ها جداسازی نشد. همچنین در تیمار شاهد در پایان آزمایش اسکلت قارچ از خاک

نتایج کلی آزمایشات نشان داد که کاربرد بازامید گرانولیت به مقدار ۴۰۰ گرم در متر مکعب به خاک گلدانها قبل از کاشت غده های سیب زمینی، باعث مرگ کامل قارچ پژمردگی ورتیسلیومی سیب زمینی در خاک و بقایای گیاهی شد (جدول ۲). کاربرد بازامید گرانولیت به میزان ۳۳۳ گرم در هر متر مکعب خاک مانع از رشد کامل کلنی قارچ *Fusarium oxysporum sp. lycopersici* f. روی محیط کشت شده و بطور کامل میسلیوم و کلامیدوسپور قارچ عامل بیماری را در خاک و بقایای گیاهی از بین برد (امینی، ۲۰۰۷). همچنین تدخین خاک با ماده بازامید گرانولیت به میزان ۶۰ گرم در مترمربع باعث حذف کامل قارچ پژمردگی

1 - Cirulli

2 - Sumino et al.

استفاده از بخار آب، و سایر سموم تدخینی مثل متیل بروماید و کلروپیکرین را ندارد (تاناکا و همکاران<sup>۵</sup>، ۲۰۰۱). در نتیجه بدلیل ایمن بودن و بی خطر بودن برای انسان، کاربرد آسان و سایر مزایای بازامید گرانولیت در مقایسه با سایر سموم شیمیایی و تدخینی، این ماده میتواند جایگزین خوبی برای کنترل بیماریهای خاکزاد و ضد عفونی خاک در گلخانه ها، خاک نهالستانها و غیره باشد. مصرف ۳۰۰-۴۰۰ گرم از ماده بازامید گرانولیت در هر متر مکعب در خاک می تواند باعث حذف بیمارگرهای قارچی و فرمهای مقاوم آنها مثل اسکلرت، کلامیدوسپور و غیره، بذر علف های هرز در مزارع و گلخانه ها و نهالستانها گردد.

### سپاس گذاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه کردستان به دلیل حمایت های مالی از این طرح تشکر و قدردانی می گردد.

جداسازی گردید. نتایج نشان داد که قارچکش بازامید روی قارچ ورتیسلیوم درون خاک تاثیر داشته و باعث از بین بردن کامل کلیه اندامهای قارچ حتی اسکلرت آن در خاک شد. همچنین اندازه گیری جمعیت عامل بیماری در خاک گلدان ها (cfu/g) نشان داد که جمعیت خاک گلدانهای شاهد در شروع و پایان آزمایش تقریباً ثابت ماند. بر عکس جمعیت عامل بیماری در گلدانهای تیمار شده با قارچکش بازامید گرانولیت کمتر از شروع آزمایش و یا به صفر کاهش یافت. مقایسه میانگین تیمارها با تیمار شاهد در آزمون کمترین اختلاف معنی دار (L.S.D) در سطح ۵٪ صورت گرفت و بین آنها اختلاف معنی دار مشاهده شد.

تدخین خاک بوسیله بازامید گرانولیت باعث کنترل کامل عوامل بیماریزای خاکزاد کدوئیان مثل قارچها و نماتدها می شود (آش چئولف، ۲۰۰۱)، بعلاوه این ماده موجب از بین رفتن عوامل بیماریزای قارچی ریشه گیاهان از قبیل *Phytophthora* sp., *Pythium* sp. و *Rhizoctonia* sp. گردید (براون و شیمانسکی<sup>۱</sup>، ۲۰۰۲). بازامید گرانولیت بطور کامل باعث از بین رفتن قارچ عامل پوسیدگی سفید ریشه *Rosellinia necatrix* در شرایط گلخانه شد (سوسا<sup>۲</sup>، ۱۹۸۵) و مانع جوانه زدن قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* شد (لیو و سان<sup>۳</sup>، ۱۹۸۴). ترکیب بازامید گرانولیت با قارچ *Trichoderma asperellum* باعث کاهش رشد قارچ ورتیسلیوم روی گیاه فلفل در مقایسه با متیل بروماید گردید (زسلاو و استانیسلاو، ۲۰۰۹).

روش ضد عفونی خاک بوسیله کاربرد بازامید گرانولیت بهترین روش برای از بین بردن عوامل بیماریزای خاکزاد گیاهان است (لوپز و همکاران<sup>۴</sup>، ۲۰۰۳)، زیرا استفاده از این ماده خطر جمع شدن مواد محلول مثل نترات آمونیم و دی اکسید نیتروژن در نتیجه

1- Brown & Schimanski

2 - Sousa

3 - Liu & Sun

4 - Lopez et al.

5 - Tanaka et al.

### منابع

۱. امینی، ج. ۱۳۸۶. بررسی روشهای مختلف کنترل تکمیلی بیماری قارچی پژمردگی ورتیسلیومی سیب زمینی. کمیته پژوهش، آمار و فن آوری اطلاعات استان کردستان. ۲۹ ص.
۲. صانعی، س.ج.، طاهری ع.ح.، و رضوی، س.ا. ۱۳۸۳. پژمردگی ورتیسلیومی درختان میوه و سایه دار. انتشارات پیک ریحان. ۸۴ ص.
۳. منصوری، ب. ۱۳۷۳. بیماری پژمردگی ورتیسلیومی یا مرگ زودرس سیب زمینی در استان فارس. گزارش کوتاه علمی. مجله آفات و بیماریهای گیاهی، ۶۲ (۲۱): ۱۰۶.
4. Akkopru, A., and Demir, S. 2005. Biological control of Fusarium wilt in tomato caused by *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* by AMF *Glomus intraradices* and some Rhizobacteria. *Journal of Phytopathology*, 153: 455-550.
5. Aminaee, M.M., Mansoori, B., and Ershad, D. 2006. A study on Verticillium wilt of Potato in Kerman province. Proceedings of the 17<sup>th</sup> Iranian plant protection Congress. University of Tehran, Karaj, P 163.
6. Amini, J. 2007. Soil sterilization by Basamid granule to control Fusarium wilt of tomato under glasshouse conditions. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 43(2): 257-265.
7. Ashcheulov, V.I. 2001. From experience with application of Basamid granulate. *Zashchita-i-Karantin-Rastenii*, 12: 25.
8. Atallah, Z.K., Hayes, R.J., and Subbarao, K.V. 2011. Fifteen years of Verticillium wilt of letter in Americas Salad bowl: a tale of immigration, subjugation and abatement. *Plant Disease*, 95: 784-792.
9. Bello, A., Lopez, P., and Tello, J. 2001. Alternative to methyl bromide for soil fumigation in Spain. *FAO-Plant-Production- and-Protection-paper*, 166: 33-46.
10. Bilodeau, G.J., Kolike, S.T., Uribe, P., and Martin, F.N. 2012. Development of an assay for rapid detection and quantification of *Verticillium dahlia* in soil. *Phytopathology*, 102: 331-343.
11. Brown, G., and Schimanski, L. 2002. New weapon to combat apple replant disease. *Pome-Fruit-Australia*, 10-12.
12. Cirulli, M. 2001. Verticilliosis in cardoons. *Informatore-Agrario*, 57: 51-52.
13. Slusarki, C., and Pietr, S.J. 2009. Combined application of dazomet and *Trichoderma asperellum* as an efficient alternative to methyl bromide in controlling the soil-borne disease. *Crop Protection*, 28: 668-674.
14. Daniel, T., and Martin, J. 2001. Effect of intercropping on growth and reproductive capacity of late-emerging *Senecio vulgaris* L., with special reference to competition for light. *Annals of Botany*, 87: 209-217.

15. Davis, J.R., Huisman, O.C., Everson, D.D., Nolte, P., Sorensen, L.H., and Schneider, A.T. 2010. Ecological relationships of Verticillium wilt suppression of potato by green manures. *American Journal of Potato Research*, 87: 315-326.
16. Desjardins, A.E., McCormick, S.P., and Corsini, D.L., 1995. Diversity of sesquiterpenes in 46 potato cultivars and breeding selections. *Journal of Agriculture and food Chemistry*, 43: 2267-2272.
17. Fradin, E.F., and Thomma, B.P.H.J. 2006. Physiology and molecular aspects of Verticillium wilt diseases caused by *V. dahliae* and *V. albo-atrum*. *Molecular Plant Pathology*, 7: 71-86.
18. Grunden, E., Chen, W., and Crane, J. L. 2001. Fungi colonization microsclerotia of *Verticillium dahlia* in urban environments. *Fungal Diversity*, 8: 129-141.
19. Johnson, D.A. Baker, R., and Boydston, R. A. 2013. Field evaluation of mutant and hybrid lines of mint for resistance to Verticillium wilt and yield. *Crop Protection*, 43: 1-6.
20. Little, E.T.M., and Hills, F.J. 1978. *Agricultural Experimentation Design and Analysis*. John Willey and Sons. Inc. New York. USA. 349 pp.
21. Liu, H.Y. and Sun, S.K. 1984. Some ecological studies of *Sclerotinia sclerotiorum*, the causal agent *Sclerotinia* disease on crop plants. *Journal of Plant Protection Bulletin*, [Taiwan] 26: 81-86.
22. Lopez, J. M., Medina, J.J., and Miranda, L. 2003. Alternative to methyl bromide. *Culture-Protette*, 32: 59-65.
23. Naraghi, L., Heydari, A., Rezaee, S., Razavi, M., and Jahanifar, H. 2010. Study on antagonistic effect of *Talaromyces flavus* on *Verticillium albo-atrum*, the causal agent of potato wilt disease. *Crop Protection*, 29: 658-662.
24. Olesen, M.H., Deleuran, L.C., Gislum, R., and Boelt, B. 2014. Preventing an increase in Verticillium wilt incidence in spinach seed production. *Crop Protection*, 66: 107-113.
25. Park, B.S., and Landschoot, P.J. 2003. Effect of Dazomet on annual bluegrass emergence and creeping bent grass establishment in turf maintained as a golf course fairway. *Crop Science*, 43: 1387-1394.
26. Salles, L.A., Sosa, D.A., and Valeiro, A. 2001. Alternatives for the replacement of methyl bromide in Argentina. *FAO-Plant-Production-and Protection-paper*, 166: 3-11.
27. Shelemekh, D. 2001. Technology of soil sterilization by Basamid granulates in greenhouse. *Gavrish*, 5: 41-42.
28. Sousa, A.J. 1985. Control of *Rosellinia necatrix* (Hartig) berlese, causal agent of white root rot: susceptibility of several plant species and chemical control. *European Journal of Forest Pathology*, 15: 323-332.

29. Spink, D.S., and Rowe, R.C. 1989. Evaluation of *Talaromyces flavus* as a biological control agent against *Verticillium dahliae* in potato. *Plant Disease*, 73: 230-236.
30. Sumino, A., Kitabatake, K., and Yanagiyama, H. 2001. Control effect of Dazomet soil fumigation on *Verticillium* black spot of Japanese radish. 52<sup>nd</sup> Annual Report of the Society of Plant Protection of North Japan, 45-48.
31. Tanaka, S., Maeda, K., Iwasaki, K., and Sakurai, K. 2001. Effect of soil disinfestation treatment on soil physicochemical properties and microbes. *Japan Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 72: 554-557.
32. Yangui, T., Sayadi, S., Gargoubi, A., and Dhouib, A. 2010. Fungicidal effect of hydroxytyrosol-rich preparation from olive mill wastewater against *Verticillium dahlia*. *Crop Protection*, 29: 1208-1213.
33. Uppal, A.K., El hadrami, A., Adam, L.R., Tenuta, M., and Daayf, F. 2008., Biological control of potato *Verticillium* wilt under controlled and field conditions using selected bacterial antagonists and plant extracts. *Biological Control*, 44: 90-100.
34. Xiao, C.L., Hao, J.J., and Subbarao, K.V. 1997. Spatial patterns of microsclerotia of *Verticillium dahlia* in soil and *Verticillium* wilt of cauliflower. *Phytopathology*, 87: 325-331.
35. Xiaoping, H., Jiarong, Y., and Xiangming, X. 2013. An optimized method for *in vitro* production of *Verticillium dahlia* microsclerotia. *European Journal of Plant Pathology*, 136: 225-229.

## Investigating the control of potato *Verticillium* wilt by Basamid granulate *in vitro* and greenhouse conditions

J. Amini

Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran, (jamini@uok.ac.ir)

Received: 9 February, 2015

Accepted: 6 July, 2015

---

### Abstract

*Verticillium* wilt disease of potato is soil-borne pathogen that causes problems in potato plant all over the world and is difficult to control. In this research, the effect of Basamid granulate (Dazomet 98%) at different concentrations (266, 333, 400 gr/m<sup>3</sup>) was tested *in vitro* and greenhouse conditions for their ability in order to control *Verticillium* wilt of potato. The results showed that application of basamid granulate at the rate of 400 gr/m<sup>3</sup> caused complete death of colony and microsclerotia of pathogen *in vitro* and greenhouse conditions. Similar to untreated control, disease severity and vascular discoloration in this treatment were reduced to zero. All treatments showed significant differences at 1% according to Duncan's test. Therefore, results indicated that not only is soil fumigation by basamid granulate cheaper, easier and safe, but also it is an acceptable alternative for other fungicides in control *Verticillium* wilt of potato.

**Keywords:** *Potato, Basamid granulate, Verticillium wilt*