مجله به‌زراعی نهال و بذر
جلد ۲-۳۱، شماره ۲، سال ۱۳۹۴

مقاله کوتاه علمی

Scientific Short Article

اثر محلول‌پاشی سولفات منیزیم کلاته و اسید سالیسیلیک بر آتشک شاخه گلابی رقم لوئیز بون

Effect of Spray with Edetate Magnesium Sulfate and Salicylic Acid on Shoot Fire Blight in Pear cv. Louise Bonne

مه‌جبین عادل[۱]، محمدعلی نجاتیان[۲]، محمداسماعیل امیری[۳] و عباس داودی[۴]

۱ و ۳- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
۲ و ۴- به ترتیب دانشیار ومربی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۶/۲۴ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۹/۲۳**

عادل م ، ا.، نجاتیان ، م. ع.، امیری، م. ا. و داودی ، ع. ۱۳۹۴. اثر محلول‌پاشی سولفات منیزیم کلاته و اسید سالیسیلیک بر آتشک شاخه گلابی رقم لوئیز بون. **مجله به‌زراعی نهال و بذر ۲-۳۱:** ۱۲۶ - ۱۹۳. **10.22092/sppj.2017.110575**

بیماری آتشک با عامل باکتریایی *Erwinia amylovora* مهم‌ترین و متداول‌ترین تنش زیستی گلابی در سطح جهان بوده و به دلیل وسعت دامنه گسترش، خسارت‌زایی زیاد و عدم وجود درمان قطعی اهمیت اقتصادی بالایی دارد. براساس گزارش وندر زویت و بیر (Van der Zwet Beer, 1991) با وجود گذشت بیش از دو قرن از بروز این بیماری، تاکنون درمان قطعی برای کنترل آن گزارش‌هائی نشده است. گزارشاتی از کاربرد برون‌زای اسیدسالیسیلیک و ترکیبات وابسته به آن در بسیاری از تنش‌های محیطی و از جمله آتشک ارائه شده است که در این رابطه غلظت ماده و نوع میزبان عوامل تعیین کننده‌ای هستند (Ghahramani *et al.*, 2009). کوزه اوغلو و همکاران (Koseoglu *et al.*, 1996) اختلاف معنی‌داری بین نسبت نیتروژن به پتاس برگ و ساقه و شیوع آتشک به دست آوردند و کاربرد عناصر معدنی کم مصرف نظیر منیزیم را در افزایش تحمل به آتشک را مثبت گزارش کردند. کلات منیزیم نیز به عنوان یک پلی‌آمین کربوکسیله شده بنابر نظر زیوزی و همکاران (Ziosi *et al.*, 2009) در طیف وسیعی از فرآیندهای فیزیولوژیکی من جمله واکنش دفاعی در برابر تنش‌ها نقش دارد.

نویسنده مسئول: nejatianali@yahoo.com تلفـــن: ۰۲۸۱۳۳۳۷۷۹۶

بررسی تاثیر کاربرد ترکیبات معدنی، پلی‌آمینی و هورمونی بر کنترل بیماری آتشک در تحقیق حاضر با سه روش ارزیابی درصد پیشرفت نکروز در بافت گیاهی (جدا و متصل به گیاه مادری)، کاهش جمعیت باکتری عامل در تیمارهای آزمایشگاهی و تغییر ساختار فیزیکی گیاه (رشد رویشی شاخه فصل جاری) انجام شد. این بررسی با هدف یافتن روشی سودمند برای کنترل باکتری عامل آتشک و تقویت بافت گیاهی نسبت به آن و کاهش رشد رویشی شاخه از طریق تغذیه با سولفات منیزیم کلاته و سالیسیلیک اسید انجام شد.

تیمارهای مورد استفاده شامل شاهد (با و بدون محلول‌پاشی آب)، سولفات منیزیم با غلظت‌های ۰/۵ و۰/۷ گرم در هزار، اسید سالیسیلیک با غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۱ گرم در هزار و اثر متقابل آن‌ها به صورت طرح آزمایشی بلوک‌های کامل تصادفی در سال‌های ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲ اعمال شد. وجود دو تیمار شاهد با آب و بدون آب به منزله گروه فاقد ترکیبات تیماری، با توجه نقش رطوبت در تشدید آلودگی منظور شد. کلیه تیمارهای دارای سولفات منیزیم حاوی مقادیر مساوی (۲/۷ گرم در هزار) کلات منیزیم بود. برآورد تقویت بافت گیاه توسط ترکیبات مذکور در شرایط محیطی (درخت کامل) و آزمایشگاهی (بافت برگ) انجام شد. محلول‌پاشی روی ۶۰ درخت گلابی رقم لوئیز بون (Louise Bonne) روی پایه بذری در سه بلوک آزمایشی، هر بلوک مشتمل بر ده واحد آزمایشی و هر واحد آزمایشی دارای دو درخت کامل ده ساله، در باغی مبتلا به بیماری آتشک واقع در روستای جهان آباد استان قزوین و در شرایط آلودگی طبیعی (۲۰ درصد آلودگی) و رطوبت بحرانی، در دو نوبت با فاصله زمانی هفت روز از گلدهی و در شش تکرار انجام شد. برای حذف اثر حاشیه، فاصله مکانی بین بلوک‌ها و واحدهای آزمایشی لحاظ در نظر گرفته شد. به منظور برآورد شدت خسارت ناشی از بیماری آتشک در شرایط باغی از سیستم ارزیابی استاندارد USDA یا شاخص بلتسویل استفاده و نتایج در دو سال متوالی ثبت شد. ارزیابی آزمایشگاهی میزان بازدارندگی تیمارها بر برگ گلابی (برگ چهارم و پنجم تهیه شده از رشد سال جاری طی تابستان) با دو روش تزریق باکتری با سرنگ انسولین (Injection method) و غوطه‌وری بافت گیاهی در مایه تلقیح باکتری (Dipping Method) انجام شد. در روش تزریق پس از قرار دادن سه برگ برای هر تیمار به مدت دو شبانه‌روز در مواد تیماری، به میزان ۲۰ میکرولیتر از مایه باکتری با کدورت ۲ توسط سمپلر برداشته و به وسیله سرنگ انسولین به بافت دمبرگ گلابی تزریق شد و در روش غوطه‌وری دمبرگ در مایه تلقیح باکتری نیز پس از بریدن انتهای بافت دمبرگ، در مایه باکتری با کدورت ۲ قرار داده شد. در نهایت درصد نکروز با اندازه‌گیری پیشرفت نکروز دمبرگ و طول کل دمبرگ و به دست آوردن نسبت

این مقادیر به صورت درصد محاسبه شد (van der Zwet and Beer, 1991).

ارزیابی بازدارندگی مواد تیماری بر رشد باکتری عامل (بدون بافت گیاهی) با شمارش تعداد کلونی‌های باکتری روی محیط کشت مصنوعی انجام شد. به این منظور ترکیبات تیماری توسط سمپلر در همان غلظت‌های اعمال شده در شرایط باغی به محیط کشت آگار مغذی افزوده شد و سوسپانسیون حاصل از کشت‌های شب‌گذران باکتری عامل در کدورت ۰/۰۱ ایجاد شد. سری رقت مورد استفاده در این آزمایش 10^{-2} و مایه باکتری به کار رفته برای هر تشتک پتری یک میکرولیتر بود که دو روز بعد به سطح محیط کشت افزوده شد. ارزیابی بازدارندگی مواد تیماری بر رشد باکتری عامل با روشی غیردستی نیز انجام شد. برای تعیین میزان رشد باکتری از دستگاه اسپکتروفتومتر و همان محیط‌های کشت مصنوعی حاوی غلظت‌های به کار رفته در شرایط باغی با شمارش تعداد کلونی استفاده شد. از تمام محیط‌های کشت به تفکیک سوسپانسیونی با حجم حلال مساوی (با افزودن پنج میلی‌لیتر آب مقطر و حل کردن باکتری‌های رشد کرده در محیط کشت در آب مقطر) تهیه و سپس کدورت باکتری هر یک از تیمارهای موجود در محیط‌های کشت توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر به تفکیک ثبت شد.

به منظور برآورد تاثیر تیمارها بر میزان رشد گیاه، در پایان فصل رشد کاهش رشد شاخه سال جاری با یک متر نواری برحسب سانتی متر اندازه‌گیری و همبستگی آن با داده‌های مربوط به شدت آتشک همان تیمار به دست آمد. محاسبات آماری صفات مورد اندازه‌گیری با استفاده از نرم‌افزارهای (۱۱) MSTATC و (۱۶) SPSS و مقایسه میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج نشان داد اثر تیمارها بر شاخص بلتسویل در هر دو سال در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. در این بررسی کاهش درصد آلودگی با افزایش غلظت سولفات منیزیم کلاته از ۰/۵ به ۰/۷ نسبت مستقیم و با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک از ۰/۱ به ۰/۵ نسبت عکس داشت که موید نقش موثر این ترکیبات و دوز مورد استفاده آن‌ها در تحریک تحمل گیاه بود. نتایج نشان داد چنانچه کاربرد اسیدسالیسیلیک با ترکیبات مغذی پشتیبان همراه شود، قابلیت اسید سالیسیلیک در مهار بیماری حتی در غلظت‌های بالا افزایش یافته و مانع نفوذ بیمارگر در بافت گیاهی می‌شود. کم‌ترین درصد آلودگی در تیمار توام سولفات منیزیم کلاته با غلظت ۰/۷ و اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۵ گرم در هزار به دست آمد (جدول ۱).

نتایج ارزیابی آزمایشگاهی تعداد کلونی رشد کرده در محیط کشت و کدورت باکتری (روشی غیر دستی) حاکی از تفاوت معنی‌دار بین تیمارها در سطح احتمال یک درصد بود. بالاترین تعداد کلونی در روش شمارش دستی به

جدول ۱- مقایسه میانگین صفات شاخص بلتسویل، رشد شاخه سال جاری، درصد نکروز، تعداد کلونی و میزان باکتری در تیمارهای مختلف

Table 1. Mean comparison of Beltsville index, current growth, necrosis percentage, colony number and inoculum densities in different Treatments

تیمار Treatment	درصد شاخص بلتسویل Beltsville Index	درصد نکروز Necrosis percentage (Injection method)	درصد نکروز Necrosis percentage (dipping method)	رشد شاخه سال جاری Current shoot growth (cm)	میزان باکتری (روش غیر دستی) Inoculum densities (OD = 0/5)	تعداد کلونی Colony number (OD = 0/01-dilution=10^{-2})
Control (H_2O)	4.50cd	83.63a	26.83bc	35.23c	1.94ab	87.33a
EMS 0.5	5.83c	6.97b	26.66bc	11.50b	2.80a	76.00b
EMS 0.7	4.73cd	2.99b	30.71b	13.00b	1.73b	66.67c
SA 0.1	3.66b	65.05a	45.79a	24.17d	1.19c	49.67d
EMS 0.5 + SA 0.1	2.83ef	4.79b	1.27e	14.38b	1.31d	27.33f
EMS 0.7 + SA 0.1	4.14d	3.66b	30.20b	13.33b	1.26d	26.67f
SA 0.5	4.83cd	75.37a	22.16cd	12.50b	1.18c	15.67g
EMS 0.5 + SA 0.5	3.85b	76.20a	2.09e	15.17b	1.54e	40.00e
EMS 0.7 + SA 0.5	1.50f	74.04a	4.65e	15.33b	1.12f	15.07g
Control (without H_2O)	20.17a	10.02b	17.54d	48.09a	1.45e	39.67e

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ ندارند.

EMS: سولفات منیزیم کلاته؛ SA: اسید سالیسیلیک.

In each column, means having similar letters are not significantly different at the P< 0.01 level from the view point of Duncan's multiple range tests.

EMS: Edetate Magnesium Sulfate; SA: Salicylic Acid.

تیمار شاهد و در روش کدورت سنجی به تیمار ۰/۵ گرم در هزار سولفات منیزیم کلاته و شاهد اختصاص داشت. پایین‌ترین میزان نیز در هر دو مورد در تیمار ترکیبی سولفات منیزیم کلاته با غلظت ۰/۷ و اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۵ گرم در هزار و اسید سالیسیلیک ۰/۵ گرم در هزار به دست آمد (جدول ۱). همبستگی مثبت و معنی‌دار (P <۰/۰۱) بین تعداد کلونی به دست آمده در روش شمارش کلونی و کدورت باکتری حاصل از روش کدورت سنجی حاکی از آن بود که این دو روش نتایج هم‌دیگر را تایید می‌کنند (جدول ۲).

نتایج حاصل از برآورد درصد نکروز در روش تزریق باکتری و همچنین غوطه‌وری دمبرگ در مایه تلقیح باکتری مبین اختلاف معنی‌داری بین تیمارها در سطح احتمال یک درصد بود. بالاترین پیشرفت نکروز در روش تزریق باکتری به تیمار شاهد و در روش غوطه‌وری به تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۱ گرم در هزار اختصاص داشت و پایین‌ترین میزان در روش تزریق به تیمار سولفات منیزیم کلاته با غلظت ۰/۷ گرم در هزار و در روش غوطه‌وری به تیمار توام سولفات منیزیم کلاته با غلظت ۰/۵ و اسید سالیسیلیک با غلظت ۰/۱ گرم در هزار اختصاص داشت (جدول ۱). در مقایسه دو روش به کار رفته در مورد ارزیابی درصد نکروز چنین استنباط می‌شود که نوع روش آلوده‌سازی بافت گیاهی و غلظت مواد تیماری سولفات منیزیم کلاته و اسید سالیسیلیک در میزان توسعه و پیشرفت بیماری

جدول ۲- ضرایب همبستگی بین صفات مربوط به بیماری آتشک و باکتری عامل آن (Erwinia amylovora) در گلابی رقم لوئیز بون

Table 2. Coefficients of correlation between traits associated to fire blight and its causal agent (Erwinia amylovora) in pear cv. Louis Bon

صفات Traits	شاخص بلتسویل Beltsville index	درصد نکروز (تزریق) Necrosis percentage injection M.	درصد نکروز (غوطه‌وری) Necrosis percentage dipping M.	میزان باکتری Inoculum densities (OD=0.5)	میزان باکتری Inoculum densities (OD=0.01)	تعداد کلونی Colony number (OD=0.01)	رشد سال جاری Current shoot growth
Beltsvite index		-0.364	-0.182	-0.060	-0.300	-0.093	0.368
NP Injection M.			-0.064	-0.336	-0.470	-0.069	0.047
NP Dipping M.				0.413	0.333	0.482	0.169
ID (OD=0.5)					0.626	0.787**	-0.107
ID (OD=0.01)						0.463	-0.047
CN (OD=0.01)							0.098

**: Significant at 1% level of probability.

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

در بافت موثر است.

وسعت نکروز در تیمارهای با غلظت بالای اسید سالیسیلیک متاثر از آلوده‌سازی بهتر بافت گیاهی در روش تزریق در مقایسه با سایر روش‌ها بود.

نظر به کاربرد ترکیبات کاهش دهنده رشد نظیر پروهگزادیون کلسیم (Costa *et al.*, 2001) در سال‌های اخیر نقش تغذیه گیاه با سولفات منیزیم کلاته در کنترل آتشک مثبت ارزیابی می‌شود. همبستگی نسبی بین میزان آلودگی با شدت رشد در کلیه گیاهان آزمایش قابل رویت بود و از رابطه مستقیم بین کاهش میزان رشد گیاه با کنترل بیماری حکایت می‌کند. لازم به ذکر است نقش منفی اسید سالیسیلیک در رشد گیاه در کنار نقش مثبت آن در تحریک مقاومت سیستمیک سنجیده می‌شود که اهمیت کاربرد هر دو ترکیب را نشان می‌دهد (جدول۲).

با ارزیابی کلی نتایج استنباط می‌شود که برخی ترکیبات تیماری مورد استفاده نظیر سولفات منیزیم کلاته با غلظت ۰/۵ گرم در هزار علی‌رغم کاهش درصد آلودگی براساس شاخص بلتسویل، قدرت بازدارندگی علیه بیمارگر را در شرایط آزمایشگاهی نداشته و تاثیر این تیمارها در کنترل بیماری، ناشی از اثر بر متابولیسم و فیزیولوژی گیاه است. نتایج همچنین نشان داد که کاربرد ترکیبی اسید سالیسیلیک و ترکیبات مغذی پشتیبان در کاهش میزان باکتری عامل و کاهش رشد رویشی گیاه و تحریک تحمل گیاه نقش مهمی دارد. شایان ذکر است میزان یکنواختی آلودگی حتی در شرایط آزمایشگاهی و روش‌های مایه‌زنی مصنوعی یکنواخت نبوده و ماهیت تاثیرپذیری دارد و عدم هماهنگی بین نتایج تعداد معدودی از تیمارها می‌تواند متاثر از میزان آلودگی در شرایط آلودگی طبیعی باشد.

واژه‌های کلیدی: گلابی، تربیت بیماری آتشک، زاویه انشعاب اثر ترکیات مغذی، کنترل بیماری.

References

Costa, G., Andreotti, C., Bucchi, F., Sabatini, E., Bazzi, C., and Malaguti, S. 2001. Prohexadione-Ca (Apogee®): Growth regulation and reduced Fire Blight incidence in pear. HortScience 36 (5): 931- 933.

Ghahramani, Z., Abdollahi, H., Majidi Hervan, A., and Salehi Jouzani, G. 2009. Efficiency of application of salicylic acid on induction of systemic acquired resistance in host plant against Fire Blight in apple and pear. Seed and plant production Journal 25-2: 153- 158. (in Persian).

Koseoglu, A. T., Tokmak, S. and Momol, M. T. 1996. Relationship between the incidence of fire blight and nutritional status of pear trees. Journal of Plant Nutrition 19: 51- 61.

van der Zwet, T., and Beer, S. V. 1991. Fire Blight. Its Nature, Prevention and Control: A Practical Guide to Integrated Disease Management. United States Department of Agriculture, Agricultural Information Bulletins No. 631, Washington D.C., USA. 34 pp.

Ziosi, V., Bregoli, A. M., Fregola, F., Costa, G. and Torrigiani, P. 2009. Jasmonate-induced ripening delay is associated with up- regulation of polyamine levels in peach fruit. Journal of Plant Physiology 166: 938- 946.