

بررسی درون شیشه‌ای کارایی **Acibenzolar-S-methyl** بر مهار
بیماری سوختگی آتشی در سیب رقم *Golden delicious**

**IN VITRO EVALUATION OF ACIBENZOLAR-S-METHYL ON
INHIBITION OF FIRE BLIGHT IN APPLE CV. GOLDEN DELICIOUS**

فریدون شاهینی سوق^۱، منصوره کشاورزی^{۲*}، نادر حسن زاده^۳،

مجید هاشمی^۲، حمید عبدالهی^۲ و مهیار طاووسی^۲

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۸/۲/۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۶/۲۴)

چکیده

در این تحقیق، اثر ماده محرک سیستم‌های دفاعی گیاه با نام بیون (**Acibenzolar-S-methyl, Bion**) بر شدت بیماری سوختگی آتشی (آتشک) در سیب رقم *Golden delicious* بررسی شد. سویه‌های باکتری *Erwinia amylovora* از نمونه‌های آلوده مناطق قزوین، مشهد، نیشابور و کرج جداسازی و پس از شناسایی، مخلوط چهار سویه به عنوان مایه تلقیح به کار برده شد. گیاهچه‌های سیب در محیط **MS** حاوی **BAP** و **NAA**، بیون، استرپتومایسین و آب مقطر محلول پاشی و سپس به دو روش ته بر کردن ساقه و برش برگ، مایه‌زنی شدند. براساس نتایج، مایه‌زنی با ته بر کردن بلایت شدیدتری ایجاد کرد. تیمار بیون بدون بروز اثر مستقیم باکتری‌کشی، شدت بلایت را در سطح قابل رقابتی با استرپتومایسین کاهش داد. بر این اساس، به نظر می‌رسد ماده محرک بیون بتواند در کنترل بیماری آتشی در سیب رقم گلدن دلشیز که رقم غالب کشور است، مؤثر باشد.

واژه‌های کلیدی: آتشی، **Acibenzolar-S-methyl**، سیب گلدن دلشیز

*: بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول ارائه شده به دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان

** : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mansureh_1343@yahoo.com

۱. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان
۲. به ترتیب اعضای هیئت علمی و کارشناس بیماری‌شناسی گیاهی، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج
۳. دانشیار بیماری‌های گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران

مقدمه

۲۶ °C نگهداری شدند. گیاهچه‌ها با بیون استریل (۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) در دو نوبت با فاصله ۴ روز محلول پاشی و ۴ روز بعد، با برش جوان‌ترین برگ باز شده توسط قیچی آغشته به زاد مایه (روش اول) یا ته برکردن ساقه و آغشتن ناحیه برش به زاد مایه (روش دوم)، مایه‌زنی شدند. گیاهچه‌های شاهد با استرپتومایسین (۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) محلول‌پاشی و پس از خشک شدن، مایه‌زنی شدند، گیاهچه‌هایی نیز یا به جای بیون با آب مقطر محلول‌پاشی شدند. پنج و ده روز پس از مایه‌زنی، شدت بلایت بر اساس: ۰، سالم؛ ۱، نکروز در ناحیه تلقیح؛ ۲، نکروز در دم‌برگ (شاخه اصلی در روش دوم) و ۳، نکروز در شاخه اصلی (دم‌برگ در روش دوم) اندازه‌گیری شد (Thomson et al. 1998). آزمایش در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و ۳ مشاهده انجام و میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن توسط نرم افزار SAS مقایسه شدند.

نتیجه و بحث

سویه‌های جدا شده از نمونه‌های آلوده، پرگنه‌های سفید مایل به آبی کم‌رنگ در محیط آگار غذایی ایجاد کرده و قادر به تولید لوان بوده اما ماده فلوروسنت تولید نکردند. در آزمون اثبات بیماری‌زایی، در روز سوم پس از مایه‌زنی برش‌های گلابی، تراوشات باکتریایی مشاهده شد. بررسی خصوصیات بیوشیمیایی/ فیزیولوژیک سویه‌ها نشان داد که گرم منفی، بی‌هوازی اختیاری ضعیف، قادر به تولید مواد احیا کننده از ساکارز و هیدرولیز ژلاتین و اسکولین (۵۰٪ موارد) بوده و واکنش منفی به آزمون‌های تولید اندول، اکسیداز، اوره از، لسیتیناز، احیای نترات و هیدولیز نشاسته نشان داده، مواد فلوروسنت و گاز H₂S از سیستمین تولید

از جمله شیوه‌های سالم برای کنترل بیماری‌های گیاهی استفاده از مواد محرک دفاعی شامل بیون Acibenzolar-S- (Bion®, methyl) است. این ماده در کاهش بیماری سوختگی آتشی (آتیشک) ناشی از *Erwinia amylovora* در تعدادی از ارقام سیب مؤثر گزارش شده است (Baysal et al. 2002; Brisset et al. 2002). هدف از این تحقیق، ارزیابی کارایی بیون در کنترل سوختگی آتشی در سیب رقم گلدن دلشز، که بیشترین سطح زیر کشت سیب کشور را به خود اختصاص داده (Maniee 1992; Taha Negad 2001)، در کشت درون شیشه‌ای سیب و دو روش مختلف مایه‌زنی است.

روش بررسی

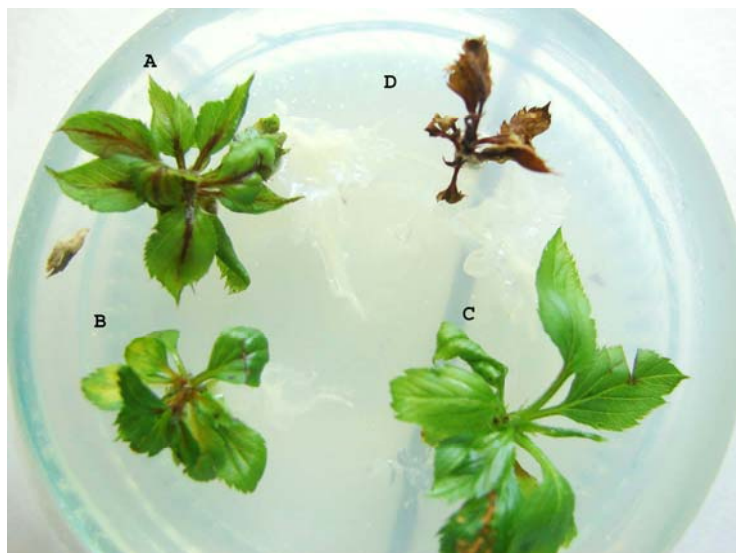
تعدادی سویه باکتری از نمونه‌های برگ و تراوشات میوه درختان سیب و گلابی مناطق قزوین، مشهد، نیشابور و کرج جدا سازی شد. اثبات بیماری‌زایی در میوه نارس گلابی و شناسایی توسط تعدادی آزمون بیوشیمیایی و فیزیولوژیک و شناسایی تکمیلی جدایه‌ها به عنوان توسط پی سی آر صورت گرفت. مراحل پی سی آر و آغازگرهای مورد استفاده بر اساس برسویل و همکاران (۱۹۹۲) انجام شد اما به عنوان دی ان ای الگو، یک پرگنه ۴۸ ساعته باکتری به مخلوط پی سی آر افزوده شد. اثر ضد باکتریایی بیون بر اساس ظهور یا عدم ظهور هاله بازدارندگی در پیرامون چاهک پر شده از بیون در مقایسه با چاهک استرپتومایسین بررسی شد (Zeller and Zeller 1999). گیاهچه‌های سیب رقم گلدن دلشز در محیط MS حاوی BAP و NAA (به ترتیب ۱ و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر) کشت و در تناوب ۱۶ ساعت نور/۸ ساعت تاریکی و دمای

شاهینی سوق و همکاران: بررسی درون شیشه‌ای کارایی Acibenzolar-S-methyl ...

جدول ۱. تأثیر تیمارهای مختلف بر شدت بلایت ناشی از *Erwinia amylovora* در مایه‌زنی به روش برش برگ و ته بر کردن ساقه در ۵ و ۱۰ روز پس از مایه‌زنی سیب.

Table 1. Effect of different treatments on blight (caused by *Erwinia amylovora*) severity using leaf cutting and shoot cutting inoculation methods in 5 and 10 days after inoculation. Of apple plantlets.

میانگین شدت بلایت ۱۰ رور پس از مایه زنی Blight severity in 10 days after inoculation	میانگین شدت بلایت ۵ رور پس از مایه زنی Blight severity in 5 days after inoculation	تیمار treatment	روش مایه زنی Inoculation method
1.6 ab	0.6 abc	Bion	برش برگ
1.4 ab	0.3 abc	Streptomycin	Leaf cutting
2.8 a	2.0 ab	Distilled water	
2.4 a	1.6 ab	Bion	ته بر کردن ساقه
2.4 a	1.8 ab	Streptomycin	Shoot cutting
2.8 a	2.6 a	Distilled water	



شکل ۱. شدت بلایت در گیاهچه های کشت بافتی سیب رقم گلدن دلشز ۵ روز پس از مایه‌زنی. گیاهچه‌های A, B, C به روش برش برگ مایه‌زنی شده اند. A و B: به ترتیب، دو نوبت محلول پاشی با آب مقطر و بیون قبل از مایه‌زنی؛ C: مایه‌زنی پس از خشک شدن محلول استرپتومایسین، D: محلول پاشی یا آب مقطر قبل از تلقیح به روش برش ساقه.

Fig. 1. Fireblight severity in in vitro grown plantlets of apple cv. Golden Delicious in 5 days post-inoculation. In A, B and C, plantlets were inoculated with leaf cutting method; A, B: sprayed twice with distilled water and bion, respectively, before inoculation; C: inoculated after drying of the streptomycin solution; D: sprayed with distilled water before inoculation using shoot cutting method.

چاهک‌های پر شده از بیون دیده نشد که مؤید عدم تأثیر مستقیم بیون بر باکتری است. در کلیه تیمارها، میانگین شدت بلایت در ۵ روز پس از مایه‌زنی کمتر از ۱۰ روز پس از مایه‌زنی (به ترتیب ۲/۲۵ و ۱/۴۶) و در روش ته بر کردن ساقه بیش از روش برش برگ (به ترتیب ۲/۲۷۵ و

نکردند. بر اساس نتایج پی سی آر، در کلیه جدایه‌ها قطعه ۹/۰ کیلوبازی مربوط به بخشی از پلاسمید pEA29 که مختص *Erwinia amylovora* است، تکثیر شد. کلیه نتایج فوق با خصوصیات باکتری اروینیا آمیلورا انطباق داشت. برخلاف استرپتومایسین، هیچ هاله بازدارندگی در اطراف

فقط در زمان رشد فعال گیاه و محدودیت‌های ارزیابی‌های باغی مانند تأثیر پذیری از شرایط طبیعی را نداشته، قادر به تکثیر انبوه مواد یکسان ژنتیکی در فضا و زمانی کمتر است. تا کنون تأثیر بیون بر کنترل سوختگی آتشی در سیب در شرایط درون شیشه بررسی نشده بلکه محدود به شرایط باغی و گلخانه‌ای بوده است. اما مطالعه درون شیشه‌ای انجام شده در گلابی مؤید کارایی بیون در کنترل سوختگی آتشی و هماهنگی بین نتایج آزمون درون شیشه و بررسی در شرایط باغ است (Spinelli et al. 2006).

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (77-78) متن انگلیسی مراجعه شود.

۱/۴۴) بود. بیون قادر به مهار آتشک در ۵ و ۱۰ روز پس از مایه‌زنی در سطح قابل رقابتی با استرپتومایسین بود (جدول و شکل ۱). بررسی‌های باغی و گلخانه‌ای در میشیگان، نیوزیلند و فرانسه و اروپا نشان می‌دهد که بیون می‌تواند شدت بیماری آتشک در سیب را تا ۷۰٪ بکاهد (Abo-Elyousr et al. 2006; Norelli et al. 2003; Brisset et al. 2000; Thomson et al. 1999). اما هیچ یک از تحقیقات یاد شده روی سیب رقم گلدن دلشیز که بیشترین سطح زیر کشت سیب ایران را به خود اختصاص داده، انجام نشده است. بنابراین در این تحقیق، کارایی بیون در کنترل سوختگی آتشی در رقم گلدن دلشیز بررسی شد. بدین منظور از تکنیک کشت درون شیشه‌ای سیب استفاده شد. این تکنیک محدودیت‌های ارزیابی گلخانه‌ای مانند نیاز به نهال‌های یکساله و پایه یکسان و قابل اجرا بودن