گیاه پزشکی (مجله علمی کشاورزی)، جلد ۳۶ شماره ۱، بهار ۹۲

القای مقاومت سیستمیک علیه بیماری سوختگی حاشیه برگ خیار با استفاده از سیلیکات سدیم

فهیمه صفدرپور[۱]، غلام خداکرمیان[۲]* و محمد جواد سلیمانی پری[۳]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۲*- **نویسنده مسئول**:دانشیارگروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

(khodakaramian@yahoo.com)

۳- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

تاریخ دریافت: ۹۰/۹/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۸

چکیده

در این پژوهش امکان القای مقاومت به خیار علیه بیماری سوختگی حاشیه برگ ناشی از باکتری *Pseudomonas marginalis* با کاربرد تیمارهای ۱ و ۲ میلی‌مولار سیلیکات سدیم درشرایط گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادکه مقاومت گیاه خیار علیه بیمارگر با کاربرد سیلیکات سدیم با غلظت ۲ میلی‌مولار به طور قابل توجهی افزایش یافت و در نتیجه شدت بیماری درگیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد ٦٢٪ کاهش یافت. یکی ازمکانیسم‌های مولکولی درگیر در القای مقاومت ناشی ازسیلیکات سدیم، تحریک تولید پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی در گیاه است که به‌عنوان نشانگرهای مقاومت اکتسابی سیستمیک پذیرفته شده است. لذا در این پژوهش فعالیت آنزیم‌های کیتیناز و β ۱ و٤ گلوکاناز در گیاهان خیار تیمار شده با ۱ و ۲ میلی‌مولار سیلیکات سدیم، در زمان‌های ۰، ٢٤، ٤٨ و ٩٦ ساعت پس از مایه زنی گیاه توسط *P. marginalis* ، به عنوان نشانگرهای القای مقاومت مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان دادکه فعالیت این دو آنزیم در گیاهان آلوده تیمار شده با سیلیکات سدیم ۲ میلی‌مولار به طور معنی‌داری بالا بود. حداکثر فعالیت این آنزیم‌ها در گیاهان تیمار شده با سیلیکات سدیم در زمان ٩٦ ساعت پس از مایه زنی باکتری *P. marginalis* مشاهده شد. در این زمان فعالیت آنزیم β- ۱و٤ گلوکاناز معادل ۰/۰۲۵ U/mg protein وآنزیم کیتیناز معادل ۰/۰۰۸۵ U/mg protein بود. این نتایج گویای اهیت نقش الیسیتورهای شیمیایی در القای مقاومت سیستمیک به خیار علیه*P. marginalis* است.

کلیدواژه‌ها: Pseudomonas marginalis ،مقاومت سیستمیک القایی، کیتیناز، β- ۱ و٤ گلوکاناز، سوختگی حاشیه برگ

مقدمه

باکتری *Pseudomonas marginalis* عامل بیماری‌های برگی (لکه برگی و نکروز حاشیه‌ای) و یا پوسیدگی نرم بسیاری از سبزیجات و گیاهان زینتی است (چرون[۱]و همکاران، ۲۰۰۹). علائم بیماری ناشی از *P. marginalis* در خیار معمولاً از لبه‌های برگ و نزدیک هیداتودها شروع و به سرعت به صورت V بزرگ شده و سرانجام این لکه‌ها به هم پیوسته و تمام حاشیه برگ کلروتیک می‌شود. به دلیل بروز این علائم، نام سوختگی حاشیه برگ خیار[۲] برای آن پیشنهاد شده است. لکه‌ها در طول یک دوره شبنم و رطوبت بالا نرم و لزج می‌شوند. اما در نبود رطوبت لکه ها خشک و کاغذی و شکننده می‌شوند (اهتا[۳] و همکاران، ۱۹۷۶).

1- Charron

2 -Marginal Bligth of Cucumber

3- Ohta

درسال‌های اخیر با در نظرگرفتن اثرات منفی آفت-کش‌ها بر محیط زیست، نیاز به توسعه روش های غیرشیمیایی جانشین برای کنترل بیماری‌ها بیشتر شده است. استفاده از ارقام مقاوم، ساده ترین و موثرترین روش جهت کنترل بیماری ها است. اما متاسفانه مقاومت به وسیله عوامل محیطی و ایجاد تنوع ژنتیکی در استرین-ها شکسته می‌شود، لذا توسعه گیاهان دارای مقاومت تشدید شده یکی از روش‌های جانشین در کنترل بیماری-ها است که می‌تواند در مدیریت تلفیقی کنترل بیماری ها مورد استفاده قرار بگیرد (دیاگو و ویدرا[1] ، ۲۰۰۷).

سیلیکات سدیم یک عنصر چهار ظرفیتی و دومین عنصر فراوان پس از اکسیژن در پوسته زمین ۲۵/۷٪ وزن زمین) است. عموماً سیلیکات سدیم به فرم دی اکسید سیلیکات سدیم (سیلیکا) و سیلیکات‌ها (آلومینیوم، پتاسیم، سدیم و کلسیم) وجود دارد و به فرم مونو سیلیسیک اسید (H_4SiO_4) توسط گیاه جذب می‌شود (دتنوف و همکاران[2]، ۲۰۰۱). مکانسیم جذب در بین گونه‌های گیاهی متفاوت است. گیاهان تک لپه ای قادر به تجمع سیلیکات سدیم بیشتری نسبت به گیاهان دو لپه ای هستند. گونه‌های گیاهی از نظر جذب و نگهداری سیلیکات سدیم به سه دسته، گونه‌های انباشت‌گر سیلیکات سدیم، گونه‌های حد واسط و گونه‌های غیر انباشت‌گر، تقسیم شده اند. گروه اول سیلیکات سدیم را به‌صورت فعال جذب کرده و گروه دوم به‌صورت غیر فعال و گروه سوم به‌صورت دفع کننده عمل می‌کنند. قدرت جذب و انتقال سیلیکات سدیم در برنج بالا، خیار متوسط و گوجه‌فرنگی کم است (ما و یاماجی[3] ، ۲۰۰۶). جزئیات اثر سیلیکات سدیم بر بیماری‌های باکتریایی تاکنون مطالعه نشده است. تنها مورد گزارش شده علیه بیماری باکتریایی پژمردگی گوجه فرنگی در اثر *Ralstonia solanacearum* بوده است که باعث کاهش بیماری و تعداد باکتری در گیاه شده است و یک رابطه منفی بین مقدار سیلیکات سدیم در گیاه و تعداد باکتری‌ها در گیاهان تیمار شده وجود داشته است (قریب و همکاران[4] ، ۲۰۱۱).

مطالعات زیادی در مورد نقش اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک در القای مقاومت در گیاهان علیه بیماری‌ها انجام گرفته است. اما مطالعات کمی در مورد نقش سیلیکات سدیم در این پروسه صورت گرفته است (کیپینگ و روترفورد[5] ، ۲۰۰۸). اخیراً کاربرد سیلیکات سدیم به‌عنوان یک القاگر و فعال کننده بالقوه مقاومت اکتسابی سیستمیک[6] در حال توسعه است. سیلیکات سدیم نه تنها در مقاومت اکتسابی سیستمیک بلکه در بیان مقاومت ژنتیکی نیز نقش مهمی را ایفا می‌کند و تولید پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی را که به‌عنوان نشانگر در مقاومت اکتسابی سیستمیک پذیرفته شده است تحریک می‌کند (ولوت و همکاران[7]، ۲۰۰۸). کاربرد سیلیکات سدیم باعث افزایش کلروفیل برگ و متابولیسم گیاه شده (دنون و ویدرا[8] ، ۲۰۰۴) و تحمل گیاه به استرس‌های محیطی شامل استرس شوری، سمیت ناشی از فلزات سنگین، خشکی، گرما، سرما و غیره را افزایش می‌دهدو باعث افزایش کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی می‌شود. از این رو باعث تعدیل زمان و مقدار پاسخ‌های دفاعی گیاه شده و مانند یک پیام رسان ثانویه در مقاومت سیستمیک القایی عمل می‌کند.نقش سیلیکات سدیم در مقاومت، تحت شرایط استرس بیشتر مشخص می‌شود (ما و همکاران[9]، ۲۰۱۰).

مطالعات متعددی نشان داده است که سیلیکات سدیم در کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی ایجاد شده توسط قارچ‌ها و باکتری‌ها موثر است. اثر مفید سیلیکات سدیم با افزایش مقاومت در خیلی از محصولات علیه بیمارگر-

1- Diago & Wydra
2- Datnoff *et al.*
3- Ma & Yamaji
4- Ghareeb *et al.*
5- Keeping & Rutherford
6- Systemic acquired resistance (SAR)
7- Vlot *et al.*
8- Dannon & Wydra
9 - Ma *et al.*

های قارچی در گیاهانی چون برنج، گندم، جو، خیار، ذرت، انگور و توت فرنگی گزارش شده است (ما و یاماجی، ۲۰۰۶). فاو و همکاران[1] (۲۰۰۱) بیان می‌کند که سیلیکات سدیم می‌تواند پاسخ‌های دفاعی مشابهی رادر مقاومت اکتسابی سیستمیک القا کند. زیرا در هر دو پتانسیل‌های دفاعی به دنبال آلودگی بالا رفته و سپس افزایش می‌یابد. پاسخ گیاه به کاربرد سیلیکات سدیم طبیعت چند جانبه دارد و به‌نظر می‌رسد که فرایندهای بیولوژیکی مختلفی در این پدیده درگیراست. سیلیکات سدیم در دیواره سلولی ریشه‌ها، برگ‌ها، پوست و ساقه رسوب کرده و باعث افزایش سختی و استحکام آن‌ها می‌شود. همچنین سیلیکات سدیم می‌تواند پاسخ‌های دفاعی را القا کند و نقش فعالی در افزایش مقاومت گیاه به بیماری‌ها داشته باشد (چریف و همکاران[2]، ۱۹۹۴).

با توجه به اینکه محصول خیار به صورت تازه مصرف می‌شود که در صورت استفاده از سموم شیمیایی دوره کارنس این سموم سپری نمی‌شود لذا کاربرد ترکیبات بی خطر یا کم خطر برای کنترل بیماری زردی و پژمردگی حاشیه برگ آن یک راهکار مناسب برای کمک به بهبود وضعیت بهداشتی این محصول است. در این راستا کمک به کنترل بیماری در شرایط گلخانه با القای مقاومت سیستمیک توسط سیلیکات سدیم که برای سلامت انسان بی خطر است ارزیابی گردید تا در کنترل بیماری مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش ها

تهیه استرین های باکتری عامل بیماری زردی و سوختگی حاشیه برگ خیار

درتابستان سال ۱۳۸۸ از گلخانه‌های خیار در مناطق کشت این محصول دراستان همدان بازدید به عمل آمد. ازبوته‌های بیمار دارای علائم لکه برگی وسوختگی به صورت V از گلخانه‌های مختلف نمونه‌برداری صورت گرفت و بافت آلوده در محیط کشت نیمه افتراقی King's B کشت داده شد. از نمونه‌های رشد کرده پرگنه‌های تیپ *P. marginalis* خالص سازی و به کمک ویژگی‌های فنوتیپی وملکولی شناسایی گردید.

آزمون واکنش گرم براساس حلالیت در پتاس سه درصد به روش ساسلو و همکاران[3] (۱۹۸۲) انجام شد. تولید رنگدانه فلورسنت بر روی محیط King's B، تولید لوان[4]، آزمون کاتالاز، آزمون اکسیداز، آزمون لهانیدن ورقه‌های سیب‌زمینی و رشد در ۴۱ درجه سلسیوس با استفاده از روش شاد[5] و همکاران (۲۰۰۱) انجام گرفت. همچنین آزمون رشد هوازی وبی‌هوازی (O/F)[6] در حضور گلوکز و به روش هیو و لایف‌سن[7](۱۹۵۳) انجام شد. آزمون بیماری‌زایی استرین‌های مختلف باکتری، مطابق روش وینستد و کلمن[8] (۱۹۵۲) انجام گرفت. برای این کار از گیاه خیار پنج هفته ای رقم نگین استفاده شد و ۴۰-۳۰ میکرولیتر ازسوسپانسیون باکتری با (OD=۰/۱) درطول موج ۶۰۰ نانومتر در بافر فسفات ۱۰mM (pH=۷) یا آب مقطر، به برگ گیاهان تزریق شد. گیاهان شاهد با آب مقطر تزریق شدند. گیاهان در شرایط گلخانه و در دمای ۲۰-۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند (کودلا[9] ، ۲۰۱۰). پس از گذشت ده روز بوته‌ها از لحاظ وجود علائم لکه برگی مورد بررسی قرار گرفتند.

انجام آزمایش‌های گلخانه‌ای

در آزمایش گلخانه‌ای، سیلیکون به‌کار رفته به شکل محلول سیلیکات سدیم (Na_2Si) بوده و غلظت های یک و دو میلی‌مولارمورد استفاده قرار گرفت (دیاگو و ویدرا، ۲۰۰۷). در این بررسی از گیاه خیار رقم نگین استفاده شد.آزمایش گلخانه‌ای به‌منظور تعیین اثر دو

1- Fawe *et al.*
2- Cherif
3- Suslow *et al.*
4- Levan
5- Shaad
6- Oxidative fermentive
7- Hugh & Leifsen
8- Winstead & Kelman
9- Kůdela

غلظت سیلیکات سدیم در القای مقاومت علیه *P. marginalis* انجام شد. چهار تیمار شامل شاهد سالم(-C)، شاهد آلوده(+C)،گیاهانی که با سیلیکات سدیم غلظت‌های یک و دو میلی‌مولار(Si) و عامل بیماری‌زا (*Pseudomonas*= Ps) تیمار شدند (Si + Ps) و گیاهانی که با سیلیکات سدیم (غلظت‌های یک و دو میلی‌مولار) تیمار شدند (Si-Ps) در این آزمایش به کار رفت.

گیاهان از مرحله‌ای که اولین برگ اصلی به خوبی رشد کرده بود تا پایان آزمایش (مرحله چهار برگی) با محلول سیلیکات سدیم تیمار گردیدند. سیلیکات سدیم هر دو روز یک بار همراه با آب آبیاری به هر گلدان اضافه گردید. همه گیاهان نسبت مساوی از محلول سیلیکات سدیم را دریافت کردند. در مرحله سه برگی گیاهان با سوسپانسیون استرینFS۷ عامل بیماری،(با OD برابر ۰/۱ در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین شده به روش اسپکتروفوتومتر) مایه زنی شدند (دنون و ویدرا، ۲۰۰۴) و پس از ۱۰ روز ارزیابی شدت بیماری با مقیاس صفر تا چهار صورت گرفت (جدول ۱).

جدول ۱- مقیاس‌های به کار رفته در ارزیابی شدت بیماری سوختگی حاشیه برگ خیار ناشی از *P. marginalis* در آزمون گلخانه‌ای

شاخص	شدت بیماری توصیف شده
۰	بدون علائم
۱	طول لکه از حاشیه برگ کمتر از سه میلی‌متر
۲	طول لکه از حاشیه برگ ۴-۸ میلی‌متر
۳	طول لکه از حاشیه برگ ۹-۱۴ میلی‌متر
۴	طول لکه از حاشیه برگ ۱۵-۲۰ میلی‌متر

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گردید و به صورت فاکتوریل ۴×۳، شامل سه غلظت سیلیکات سدیم (غلظت‌های۰، ۱ و ۲ میلی مولار) و چهار زمان و با سه تکرار با استفاده از برنامه SAS و Excel آنالیز شد و میانگین داده‌ها توسط آزمون چند دامنه دانکن مقایسه شدند.

بررسی فعالیت آنزیم β۱ و ٤ گلوکاناز

بررسی فعالیت آنزیم β- ۱و۴ گلوکاناز به روش یدیدیا و همکاران[1] (۲۰۰۰) با تغییراتی صورت گرفت. مخلوط واکنش شامل ۱۰۰ میکرولیتر محلول یک درصد کربوکسی متیل سلولز ساخت کمپانی سیگما (که در بافر استات‌سدیم ۰/۰۵ مول (pH = ۵) تهیه شده بود) و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره گیاه بود. مخلوط واکنش (۲۰۰ میکرولیتر) برای مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب ۵۰ درجه سلسیوس نگهداری شد و سپس با اضافه کردن ۶۰۰ میکرولیتر معرف دی نیتروسالیسیلیک‌اسید (DNS) و قرار دادن مخلوط واکنش در آب جوش به مدت پنج دقیقه متوقف شد. سپس حجم مخلوط واکنش با آب مقطر به ۲/۵ میلی لیتر رسانده شد و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر(Varian Cary) جذب نوری آن در طول موج ۵۰۰ نانومتر اندازه گیری و منحنی استاندارد براساس غلظت‌های مختلف گلوکز رسم شد. دستگاه اسپکتروفوتومتر برای هر نمونه به وسیله مخلوط واکنش که عصاره آن در حمام آب ۱۰۰ درجه سلسیوس فعالیتش متوقف شده بود، صفر شد. میزان پروتئین کل نیز به روش برادفورد[2] (۱۹۷۶)تعیین شد. در این روش ابتدا در لوله‌های آزمایش سه میلی‌لیتر معرف برادفورد ریخته و سپس از عصاره‌های پروتئینی خام تهیه شده مقدار ۳۰ میکرولیتر به لوله‌ها اضافه شد و پس از اختلاط کامل محتویات هر لوله و انتقال آن به کیووت شیشه‌ای، مقدار جذب در ۵۹۵ نانومتر در دستگاه اسپکتروفوتومتر (Varian Cary) قرائت شد. فعالیت اختصاصی آنزیم به صورت میلی‌گرم گلوکز آزاد شده در دقیقه به ازای میلی‌گرم پروتئین کل نمونه تعیین شد.

1- Yedidia *et al*.
2- Bradford

بررسی فعالیت آنزیم کیتیناز

بررسی فعالیت آنزیم کیتیناز به‌روش بنسود و باجکال[1](۲۰۰۶) با تغییراتی صورت گرفت. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر محلول کیتین یک درصد و ۲/۵ میلی لیتر بافر استات سدیم۰/۰۵ مول بود. مخلوط حاصله برای مدت یک ساعت در حمام آب ۴۰ درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس واکنش با اضافه کردن سه میلی‌لیتر معرف دی‌نیترو سالیسیلیک اسید متوقف شد و بهمدت پنج دقیقه در آب در حال جوشیدن قرار گرفت. سپس محلول حاصل به مدت پنج دقیقه در(rpm) ۸۰۰۰سانتریفیوژ و جذب بخش رویی در طول موج ۵۴۰نانومتر اندازه‌گیری شد. دستگاه اسپکتروفوتومتر برای هر نمونه به وسیله مخلوط واکنش که عصاره آن در حمام آب ۱۰۰ درجه سلسیوس فعالیتش متوقف شده بود، صفر شد. فعالیت اختصاصی آنزیم به‌صورت میلی گرم گلوکز آزاد شده در دقیقه به ازای میلی‌گرم پروتئین کل نمونه تعیین شد.

نتایج

تاثیر کاربرد سیلیکات سدیم بر بیماری سوختگی حاشیه برگ خیاردر شرایط گلخانه

نتایج بررسی تاثیر سیلیکات سدیم (غلظت‌های یک و دو میلی‌مولار) در گلخانه در میزان بازدارندگی سوختگی برگ خیار، نشان داد که شدت بیماری در تیمار دو میلی‌مولار سیلیکات سدیم با تیمار یک میلی-مولار و شاهد آلوده تفاوت معنی‌دار دارد و شدت بیماری در گیاهان تیمارشده با غلظت دو میلی‌مولار سیلیکات سدیم نسبت به گیاهان کنترل، ۶۲٪ کاهش یافت. اما تیمار یک میلی‌مولار آن اثر معنی دار بر بیماری نداشت (شکل ۱).

نتایج فعالیت آنزیم β - ۱ و ٤ گلوکاناز و کیتیناز

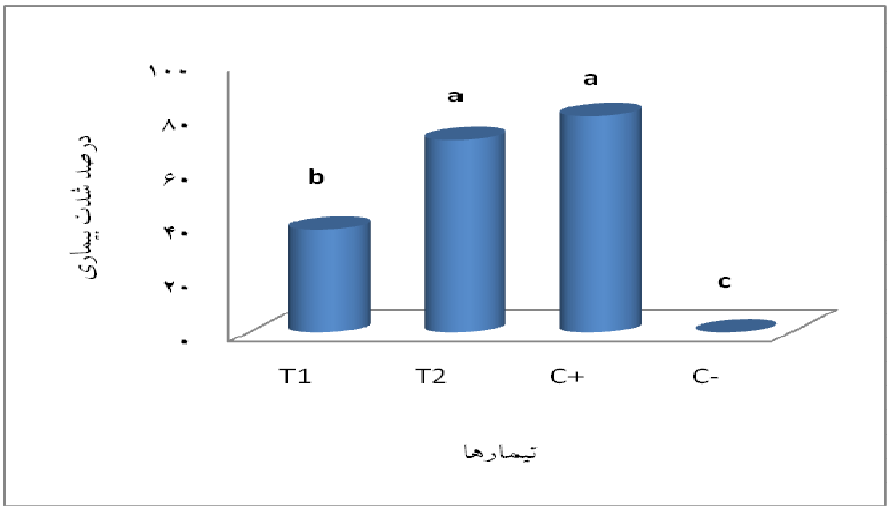
فعالیت آنزیم به صورت واحد آنزیمی در میلی گرم پروتئین کل تعیین شد. نتایج این پژوهش نشان داد که کاربرد سیلیکات سدیم در غلظت دو میلی‌مولار در گیاهان مایه زنی شده با عامل بیماری توانست فعالیت آنزیم‌های کیتیناز و β-۱ و ۴ گلوکاناز را بالا ببرد و غلظت یک میلی‌مولار آن اثر معنی‌داری بر بیماری و فعالیت آنزیم‌ها نداشت. فعالیت آنزیم‌های β - ۱ و ۴ گلوکاناز و کیتیناز بلافاصله بعد از مایه زنی باکتری عامل بیماری در تمام تیمارها در سطح پائینی قرار داشت. در فاصله زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت پساز مایه زنی باکتری عامل بیماری، شاهد بیمار (بدون سیلیکات سدیم) و گیاهان تیمار شده با سیلیکات سدیم و مایه زنی شده با بیمارگر تفاوت معنی‌دار نسبت به شاهد سالم و گیاهان تیمار شده با سیلیکات سدیم بدون حضور بیمارگر، نشان دادند.در فاصله زمانی ۹۶ ساعت پس از مایه زنی، فعالیت آنزیم‌ها فقط در گیاهانتیمار شده با سیلیکات سدیم با غلظت دو میلی‌مولار و مایه زنی شده بابیمارگر (Si۲ + Ps) اختلاف معنی‌دار داشته و حداکثر افزایش آنزیمی را نسبت به بقیه تیمارها نشان داد که برای آنزیم β- ۱و۴ گلوکاناز و کیتیناز به ترتیب معادل U/mg protein ۰/۰۲۵ و ۰/۰۰۹۲ بود و در تمام زمان‌ها تیمار یک میلی مولار سیلیکات سدیم با شاهد بیمار (بدون سیلیکات سدیم) تفاوت معنی دار نداشت (شکل ۲ و۳).

بحث

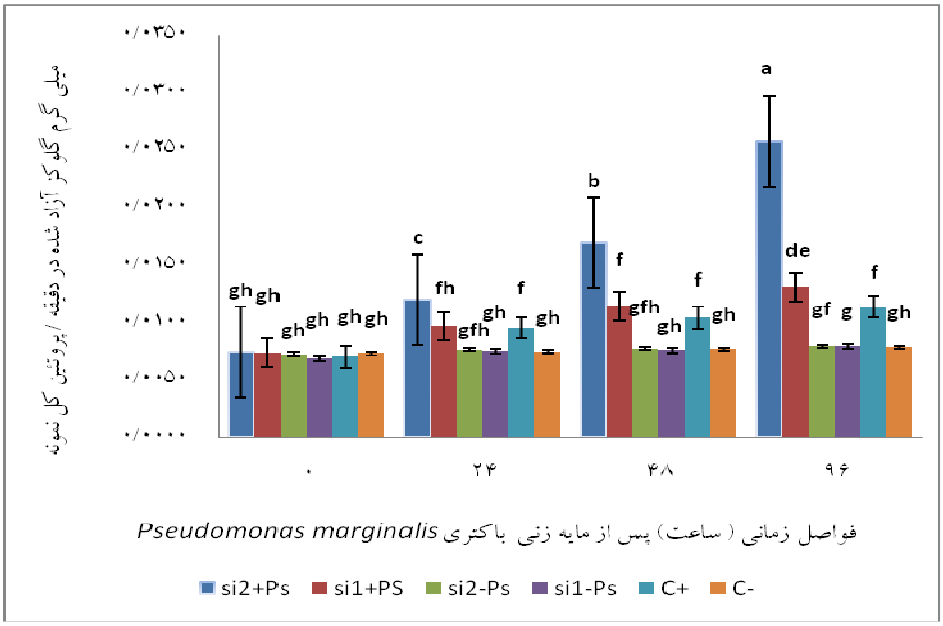
مقاومت‌های القایی در القای پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی سیستمیک نقش دارند (ون لون[2] ، ۱۹۹۷). القای مقاومت علیه بیمارگرها غالباً با بیان خانواده‌های مختلف ژنی در ارتباط است که از جمله آن‌ها آنزیم کیتیناز، آنزیم β-۱ و ۳ گلوکاناز و دیگر آنزیم‌های دفاعی چون β- ۱و ۴ گلوکاناز، پراکسیداز محلول و متصل شده به دیواره سلولی هستند (وارد[3] و همکاران، ۱۹۹۱). با توجه به این‌که سطح تجمع پروتئین‌های وابسته به بیماری‌زایی مرتبط با سطح مقاومت سیستمیک اکتسابی القایی است، لذا این پروتئین‌ها شواهد و

1-Bansode & Bajekal

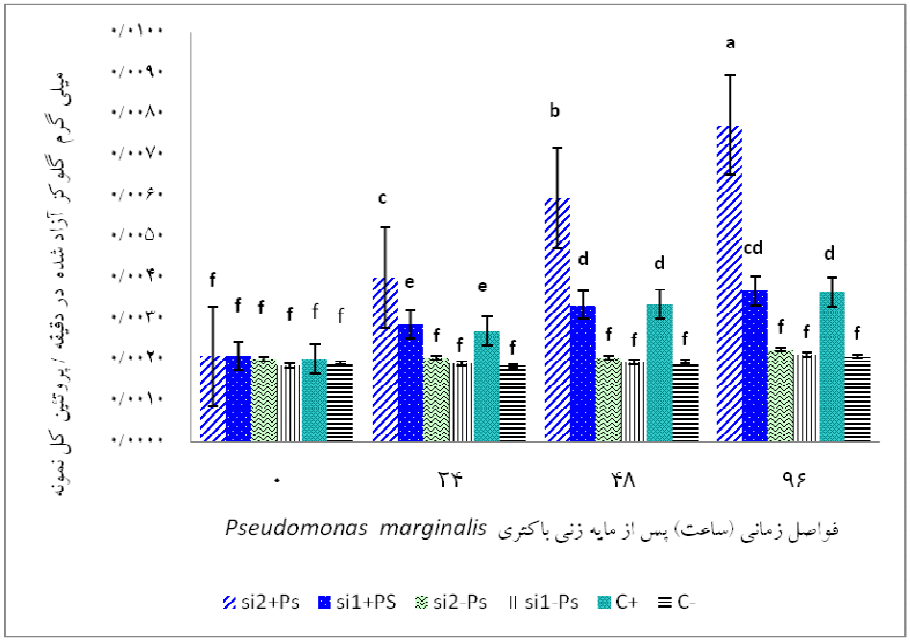
2-Van Loon
3-Ward *et al.*



شکل ۱- مقایسه میانگین شدت بیماری سوختگی برگ خیار ناشی از *Pseudomonas marginalis* در گیاهان تیمار شده با غلظت های مختلف سیلیکات سدیم در شرایط گلخانه2 = T1 (میلی مولار، T2 =1 میلی مولار، و C+ شاهد بیمار و C- شاهد سالم). میانگین های دارای حرف یکسان تفاوت معنی دار ندارند (α<۰/۰۰۰۱).



شکل۲- فعالیت آنزیم β-۱ و ٤ گلوکاناز در فواصل زمانی ۰، ٢٤، ٤٨، ٩٦ ساعت پس از مایه زنی*Pseudomonas marginalis* و کاربرد سیلیکات سدیم در گیاه خیار (Si2، سیلیکات سدیم ۲ میلی-مولار، Si1، سیلیکات سدیم ۱ میلی‌مولار، Ps-و Ps+ به ترتیب گیاهان مایه زنی نشده ومایه زنی شده با *P. marginalis*، C+ شاهد بیمار و -C شاهد سالم). واحد اعداد بر حسب میلی‌گرم گلوکز آزاد شده در دقیقه / میلی‌گرم پروتئین کل نمونه است. تیمارهایی که دارای حرف مشترک هستند در آزمون دانکن در سطح ۰/۰۱ با هم اختلاف معنی دار ندارند.



شکل۳- فعالیت آنزیم کیتیناز در فواصل زمانی ۰، ۲٤، ٤۸، ۹٦ ساعت پس از مایه زنی *Pseudomonas marginalis* و کاربرد سیلیکات سدیم در گیاه خیار(Si2، غلظت ۲ میلی‌مولار،Si1، غلظت ۱ میلی مولار، Ps- و Ps+ به ترتیب گیاهان مایه زنی نشده ومایه زنی شده با*P. marginalis*، C+ شاهد بیمار و C- شاهد سالم). واحد اعداد بر حسب میلی‌گرم گلوکز آزاد شده در دقیقه / میلی‌گرم پروتئین کل نمونه است. تیمارهایی که دارای حرف مشترک هستند در آزمون دانکن در سطح ۰/۰۱ با هم اختلاف معنی دار ندارند.

نشانگرهای مناسبی برای اثبات مقاومت سیستمیک اکتسابی هستند (ون لون، ۱۹۹۷). در ابتدا اثر حفاظتی سیلیکات سدیم در مقابل بیماری‌ها صرفاً یک حفاظت مکانیکی (رسوب سیلیکات سدیم در بافت‌های گیاه) تلقی می‌شد. اما با بررسی‌های بیشتر مشخص شد که سیلیکات سدیم نیز می‌تواند باعث القای مکانیسم دفاعی گیاه و بیان پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی در مواجه با استرس‌های زنده و غیرزنده شود. در بررسی که توسط قریب و همکاران (۲۰۱۱) صورت گرفته است، در گیاهان تیمار شده با سیلیکات سدیم و *Ralstonia solanasearum* ۱۶ ژن که مرتبط با مقاومت گیاه هستند بیان می‌شوند و به موجب آن استرس زنده ناشی از بیمارگر را تسکین می‌دهد. این نشان دهنده آن است که نقش سیلیکات سدیم فقط حفاظت مکانیکی نبوده و سیلیکات سدیم یک عنصر چند عملکردی است که به‌طور معنی‌داری تحمل گیاه را در مقابل استرس‌ها بالا می‌برد. افزایش بیان ژن فقط بستگی به حضور *R. solanasearum* داشته و در گیاهان تیمار شده با سیلیکات سدیم و بدون بیمارگر تغییری در بیان ژن رخ نداده است. این نتایج نشان می‌دهند که سیلیکات سدیم اثری بر متابولیسم گیاهی در گیاهان شاهد در شرایط بدون استرس ندارد. اما در شرایط استرس (زنده و غیر زنده) باعث تحریک پاسخ‌های دفاعی شده و این یک نقش فعال است (کای و همکاران[1]، ۲۰۰۹).

همچنین نتایج نشان داد که مقاومت ناشی از سیلیکات سدیم فرایند پیچیده ای دارد که منحصراً

1- Cai *et al.*

محدود به ایجاد سد مکانیکی و یا القای مکانیسم دفاعی گیاه نمی‌شود. طبیعت چند جانبه بودن این پاسخ‌ها می‌تواند توضیحی باشد بر غیراختصاصی بودن مقاومت القا شده به وسیله سیلیکات سدیم علیه دامنه وسیعی از بیمارگرهای غیرمرتبط. این چنین مقاومتی واکنش‌های دفاعی مکانیکی و بیوشیمیایی را در گیاهان تیمار شده با سیلیکات سدیم افزایش می‌دهد. عدم وجود تفاوت بین گیاهان تیمار شده با سیلیکات سدیم بدون حضور بیمارگر و گیاهان کنترل نشان می‌دهد که حضور یک بیمارگر برای فعال سازی واکنش دفاعی القایی به وسیله سیلیکات سدیم ضروری است و ممکن است سیلیکات سدیم با بیمارگر برهمکنش داشته باشد که منجر به مقاومت القایی می‌شود. به مطالعات بیشتری نیاز است تا مشخص شود که آیا این دو مکانیسم مقاومت به طور متقابل به یکدیگر وابسته‌اند یا نه (کای و همکاران، ۲۰۰۸).

با توجه به اینکه کنترل شیمیایی علی‌رغم کاربرد زیاد آن در کنترل بیماری‌ها دارای اثرات سوء زیست محیطی است و بقایای آن در محیط و مواد غذایی مورد مصرف مخصوصاً محصولات گلخانه‌ای که روز مصرف هستند، عامل نگران کننده‌ای است. لزوم تغییر روش‌های کنترل بیماری به کمک ترکیبات جایگزین و تلفیقی از روش‌ها برای مدیریت بیماری احساس می‌شود و مدیریت تلفیقی بیماری‌ها هم اکنون بهترین راه برای کنترل بیماری‌ها و افزایش عملکرد بدون آسیب رساندن به محیط زیست محسوب می‌شود. در نهایت و با توجه به نتایج تحقیق حاضر می‌توان نتیجه گرفت کهکاربرد سیلیکات سدیم همراه با محلول‌های غذایی و یا همراه با آب آبیاری در گیاه خیار می‌تواند به‌عنوان روشی موثری در کنترل خسارت این بیماری مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

1. Bansode, V.B., and Bajekal, S. 2006. Characterization of chitinases from microorganisms isolated from Lona Lake. Indian Journal of Biotechnology, 5: 357-363.

2. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the estimation of microorganism quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.

3. Cai, K., Gao, D., Chen, J., and Luo, S. 2009. Probing the mechanisms of silicon-mediated pathogen resistance. Plant Signaling and Behavior, 4(1): 1-3.

4. Cai, K., Gao, D., Luo, S., Zeng, R., Yang, J., and Zhu, X. 2008. Physiological and cytological mechanisms of silicon-induced resistance in rice against blast disease. Physiologia Plantarum, 134: 324–333.

5. Charron, C.S., Sams, C.E., and Cannady, C.H. 2009. Impact of glucosinolate content in broccoli (*Brassica oleracea* (Italica Group)on growth of *Pseudomonas marginalis*, a causal agent of bacterial soft rot. Plant Disease, 86 (6): 1350-1359.

6. Cherif, M.N., Menzies, J.G., Ehret, D.L., Bogdanoff, C., and Belanger, R.R. 1994. Yield of cucumber infected with *Pythium aphanidermatum* when grown with soluble silicon. Horticulture Science, 29(8): 896-897.

7. Dannon, E., and Wydra, K. 2004. Interaction between silicon amendment, bacterial wilt development and phenotype of *Ralstonia salanacearum* in tomato genotypes. Physiological and Molecular Plant Pathology, 64: 233-243.

8. Datnoff, L.E., Snyder, G.H., and Korndorfer, G.H. 2001. Silicon in Agriculture. Elsevier Science, The Netherlands pp: 4-5.

9. Diago, R.V.C., and Wydra, K. 2007. Silicon-induced basal resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum* is related to modification of pectic cell wall polysaccharide structure. Physiological and Molecular Plant Pathology, 70: 120-129.

10. Fawe, A., Menzies, J.G., Cherif, M., and Belanger, R.R. 2001. Silicon and disease resistance in cotyledons. In Datnoff, L.E., Snyder, G.H., and Korndofer, G.H. (eds), Silicon in Agriculture. Elsevier Science, The Netherlands, pp: 159-170.

11. Ghareeb, H., Bozsó, Z., Ot., P.G., Repenning, C., Stahl, F., and Wydra, K. 2011. Transcriptome of silicon-induced resistance against *Ralstonia solanacearum* in the silicon non-accumulator tomato implicates priming effect. Physiological and Molecular Plant Pathology, 75: 83-89.

12. Hugh, R., and Leifson, E. 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram negative bacteria. Bacteriology, 66: 24-26.

13. Keeping, M.G., and Rutherford, R.S. 2008. Induced resistance in sugarcane to stalk borer and thrips: is there a role for soluble silicon? IV Silicon in Agriculture Conference, Wild Coast Sun, KwaZulu-Natal, South Africa, October, 26-31.

14. Kůdela, V., Krejzar, V., and Pánková, I. 2010. *Pseudomona scorrugata* and *Pseudomonasmarginalis* associated with the collapse of tomato plants in rock wool slab hydroponic culture. Plant Protection Science, 46(1): 1–11.

15. Ma, J.F., and Yamaji, N. 2006. Silicon uptake and accumulation in higher plants. Trends in Plant Science, 11: 392-397.

16. Ma, J.F., Miyake, Y., and Tatahshi, E. 2010. Silicon as a beneficial element for crop plants, in: Datnoff, L.E., Snyder, G.H., and Korndofer, G.H. (eds), Silicon in Agriculture. Elsevier, Amesterdam, pp: 425.

17. Ohta, K., Morita, H., Mori, K., and Goto, M. 1976. Marginal blight of cucumber caused by a strain of *Pseudomonas marginalis* (Brow) Stevens. Annual Phytopathological Society of Japan, 42: 197-203.

18. Schaad, N.W., Jones, J.B., and Chun, W. 2001. Laboratory guide for the identification of plant pathogenic bacteria. 3rd Edn. Minnesota: A. P. S. USA., pp: 373.

19. Suslow, T.U., Schroth, M.N., and Isaka, M. 1982. Application of rapid method for gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining. Phytopathology, 72: 917-918.

20. Van Loon, L.C. 1997. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. European Journal of Plant Pathology, 103: 753–765.

21. Vlot, A.C., Fkhassig, D., and Park, S.W. 2008. Systemic acquired resistance: the elusive signal (s). Current Opinion in Plant Biology, 11: 436-442.

22. Ward, E.R., Uknes, S.J., Williams, S.C., Dincher, S.S., Wiederhold, D.L., Alexander, D.C., Ahl-Goy, P., Metraux, J.P., and Ryals, J.A. 1991. Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. Plant Cell, 3 (10): 1085-1094.

23. Winstead, N.N., and Kelman, A. 1952. Inoculation techniques for evaluating resistance to *Pseudomonas solanacearum*. Phytopathology, 42: 3946-3951.

24. Yedidia, I., Benhamou, N., Kapulnik, Y., and Chet, I. 2000. Induction and accumulate of PR-proteins activity during early stages of root colonization. Plant Physiology and Biochemistry, 37: 703-719.