کاربرد سیستم درون شیشه به منظور مطالعه اثر متقابل باکتری *Erwinia amylovora* با گیاهان میزبان

زهرا قهرمانی (۱)، حمیدعبداللهی (۲)، اسلام مجیدی هروان (۳) و غلامرضا صالحی جوزانی (۳)

۱- دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات، تهران، ایران، ۲- بخش تحقیقات باغبانی، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج، ایران، ۳- موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی کرج

چکیده

با ورود بیماری آتشک (Fire Blight) به ایران باغات درختان سیب، گلابی و به بیش از هر زمان دیگر در معرض خطر قرار گرفته‌اند، از سویی این بیماری فاقد یک روش مبارزه قطعی می باشد. این تحقیق به منظور بررسی کشت درون شیشه جهت مطالعه اثر متقابل عامل بیماری (*Erwinia amylovora*) وگیاهان میزبان طرح ریزی شد. به این منظور ژنوتیپ های متحمل و نیمه حساس درخت سیب (*Malus domestica* Borkh.) و گلابی (*Pyrus communis* L.) به وسیله کشت ساقه در محیط درون شیشه پرآوری شدند. ارزیابی شدت بیماری با استرین Ea273 باکتری به صورت کشت توام انجام و با استفاده از سرعت پیشرفت نکروز، تعداد میانگره‌های آلوده، تغییرات pH محیط و تولید رادیکال های فعال اکسیژن بررسی گردید. نتایج نشان داد که شاخه‌چه‌های گلابی نسبت به سیب سریع‌تر نکروزه شده و شدت بیماری به مراتب بیشتر از پایه‌های سیب بوده همچنین میزان رادیکال های فعال تولید شده در زمان حمله باکتری در هر دو گروه ارقام متحمل نسبت به ارقام حساس بیشتر تولید شد. استفاده از تعداد میانگره های آلوده به نحو بهتری بیانگر تفاوت بین مواد متحمل و حساس به بیماری بود. این سیستم به طور موفقیت آمیزی به منظور مطالعه بیوشیمی اثر متقابل میزبان/ باکتری و بررسی نقش زنجیره انتقال الکترون کلروپلاست در این رابطه پرداخته شد.

مقدمه

بیماری آتشک از مهمترین بیماری های درختان میوه دانه‌دار است که سالیانه خسارت قابل توجهی به باغدارن در کشورهای مختلف وارد می سازد (1). باکتری عامل بیماری آتشک *Erwinia amylovora* بعنوان اولین باکتری بیماری‌زای شناخته شده گیاهی و پیشتاز تحقیقات در زمینه باکتریولوژی گیاهی می‌باشد (۲). در این تحقیق به بررسی امکان استفاده از شرایط درون شیشه برای شناخت مکانیسم اثر متقابل عامل بیماری و گیاهان میزبان پرداختیم.

مواد وروش‌ها

پایه های سیب MM-111 (متحمل) و MM-106 (نیمه حساس) و ارقام گلابی هاروسوئیت (متحمل) و اسپادونا (نیمه حساس) بوسیله کشت ساقه در محیط درون شیشه حاوی نمک های میکرو، ماکرو و ویتامین های MS غنی شده با ۱ میلی گرم بر لیتر BA، ۳۰ گرم بر لیتر ساکاروز که با ۰/٦٪ آگار جامد شده بود منتقل و سپس در فتوپریود ١٦ ساعت نور و دمای ٢٤ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. مایه تلقیح مورد نیاز با کشت شبگذران باکتری *E. amylovora* در محیط LB مایع در دمای ٢٤ درجه سانتیگراد تهیه وسپس ۷۵ میکرولیتر آن به لوله آزمایش حاوی محیط و شاخه‌چه‌ها اضافه شد. تغییرات pH محیط با استفاده از برموکرزول سبز در طول آزمایش ها ردیابی شد. تولید رادیکال های فعال اکسیژن در بافت ها به روش توردال-کریستنسن (۳) بررسی شد. پیشرفت بیماری با استفاده از سرعت پیشرفت نکروز و تعداد میانگره های آلوده بررسی شد.

نتایج و بحث

با مقایسه سرعت پیشرفت نکروز در پایه‌ها و ارقام نیمه حساس ومتحمل سیب وگلابی مشخص شد که میزان خسارت در پایه‌های سیب MM-106 و رقم اسپادونا به ترتیب بیشتر از پایه MM-111 و رقم هاروسوئیت بود. زمان شروع اولین علائم آلودگی در ارقام گلابی زودتر از پایه‌های سیب بود. میزان افت pH در تمامی ارقام تقریبا شبیه هم و افت pH از۵/۲ به ۳/۷ بود. میزان تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن در ارقام متحمل هم در سیب وهم در گلابی بیشتر از ارقام نیمه حساس بود.

منابع

1-Momol, M. T., and Aldwinckle, H. S. 2000. Genetic discovery and host range of *Erwinia amy*lovora. pp. 55-72. In: Vanneste, J.L. (ed.) Fire Blight: The Disease and its Causative Agent *Erwinia amylovora*. CABI Publishing.

۲-Van der Zwet, T., and Keil, H.L. Fire blight: a bacterial disease of rosaceous plants. United States Department of Agriculture, Agricultural Handbook Number 510. 1979.

۳-Thordal-Christensen H, Zhang Z, Wie Y, Collinge DB. Subcellular localization of H2O2 in plants, accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley- powdery mildew interaction. Plant Journal 1997;11:1187-94.

In vitro System for Studying *Erwinia amylovora*/Host Plants Interaction

Zahra Ghahremani, Hamid Abdollahi, Eslam Madjidi Heravan, Golam Reza Salehi Jouzan

Fire blight is the most catastrophic disease of pome fruits in the world, and the disease is not definitively controllable in the orchards. The current research was carred out to study some aspects of *Erwinia amylovora*/hosts interaction *in vitro* condition. Apple (*Malus domestica* Borkh.) rootstocks, MM111 (Tolerant) and MM106 (semi-susceptible) and pear (*Pyrus communis* L.) cultivars, Harrow Sweet (Tolerant) and Spadona (semi-susceptible) were micropropagated and inoculated from basal parts with *E. amylovora* Ea273. The pathogen activity was traced by adding Green Bromo Cresol, and evaluating the pH variation in media. The disease progress was evaluated by necrosis progress rate, number of necrosed internodes as well as produces the reactive oxygen radicals (ROS). The results showed that the disease symptoms were appeared prior in pear shootlets, also in both tolerant apple and pear tested cultivars the ROS production was triggered earlier. Number of necrosed internodes was a more appropriate index to demonstrate disease differences between semi-susceptible and tolerant cultivars. Additionally, in this system we successfully studied the interaction of *E. amylovora* with electron transport chain of chloroplasts in host cells.

Key Words: Fire Blight, Apple, Pear, In Vitro, Reactive Oxygen Species.