فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۲۸، شمارهٔ ٤، صفحهٔ ۷٤۰-۷۳۰ (۱۳۹۱)

کنترل عامل بیماری پوسیدگی نرم گیاه زینتی سینگونیوم (*Pectobacterium carotovorum*) با استفاده از اسانس‌های گیاهی و آنتی‌بیوتیک‌ها در دو سطح آزمایشگاه و گلخانه

سحر صیاد[1*]، نادر حسن‌زاده[2]، ابوالقاسم قاسمی[3] و عیسی ناظریان[4]

۱*- نویسنده مسئول، دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، گروه بیماری‌شناسی، دانشگاه علوم تحقیقات
پست الکترونیک: asmanaby20@yahoo.com
۲- دانشیار، گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
۳- مربی پژوهشی، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، تهران
٤- کارشناس، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی، مرکز ملی گل و گیاهان زینتی محلات

تاریخ دریافت: فروردین ۱۳۹۰ تاریخ اصلاح نهایی: مرداد ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۰

چکیده

به‌منظور کنترل عامل باکتریایی پوسیدگی نرم گیاه زینتی سینگونیوم (*Pectobacterium carotovorum*)، تعدادی اسانس و آنتی‌بیوتیک در شرایط آزمایشگاه و گلخانه مورد بررسی قرار گرفتند. در سطح آزمایشگاه پس از تعیین حداقل میزان بازداری و تهیه رقت‌های مختلف شش اسانس مورد استفاده به نامهای آویشن، مرزه، زنیان، اکالیپتوس، شوید و زیره سبز، اسانس آویشن در غلظت خالص با ۱۵ میلی‌متر هاله بازدارندگی و از بین رقت‌های مختلف دو آنتی‌بیوتیک اریترومایسین و استرپتومایسین، آنتی‌بیوتیک اریترومایسین با غلظت ۱۵mg/disk با ۱۵ میلی‌متر هاله بازدارندگی دارای بیشترین تأثیر علیه باکتری عامل پوسیدگی نرم در مقایسه با سایر ترکیب‌ها بودند. هاله بازدارنده تشکیل شده در رقت ٤۰۰mg/ml اریترومایسین، ۵-۳ میلی‌متر و به‌طور تقریبی مشابه با هاله تشکیل شده با رقت ۰/۰۱mg/ml اسانس آویشن در سطح آزمایشگاه بود. بعکس، در شرایط گلخانه در بین رقت‌های مناسب بکار رفته، اریترومایسین در رقت ٤۰۰mg/ml با میزان رشد ریشه ۷۰ میلی‌متر و میزان متوسط ۳ میلی‌متر پوسیدگی نسبت به رقت ۰/۰۱mg/ml اسانس آویشن که به‌ترتیب به‌طور متوسط ۳۲ و ۷ میلی‌متر میزان رشد و پوسیدگی ریشه بود و در مقایسه با سایر تیمارها هم از بیشترین کارآیی برخوردار بود که این موضوع نشان‌دهنده تأثیر مثبت هر دو ماده اریترومایسین و اسانس آویشن در کنترل بیماری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پوسیدگی نرم، اسانس، آنتی‌بیوتیک، پکتوباکتریوم.

مقدمه

گل‌های زینتی همواره به‌عنوان یکی از منابع مهم اقتصادی در صادرات برخی از کشورها به‌شمار می‌رود. بشر از گذشته محل استقرار خود را در نواحی سرسبز و مناطق رشد گل‌ها قرار داده‌است و با توجه به شرایط محیطی خود، به پرورش بسیاری از گل‌ها و گیاهان زینتی پرداخته و حتی با پیشرفت امکانات برای پرورش گیاهان بسیاری از گیاهان و گل‌ها را از مبدأ اصلی به نقاط دیگر دنیا برده‌است و با تأسیس گلخانه‌ها و مراکز پروش گیاهان، سعی در نگهداری و افزایش این محصول اقتصادی نموده‌است. از عمده کشورهای تولیدکننده گیاهان زینتی می‌توان به کشورهای اروپای غربی، ژاپن و آمریکا اشاره کرد (قاسمی قهساره، ۱۳۸٦).

Archive of SID

www.SID.ir

در ایران سابقه کشت و پرورش گیاهان زینتی به صورت اقتصادی، به‌طور تقریبی به ۸۰ سال پیش برمی‌گردد. مراکز بزرگ تولید گل و گیاه در ایران در نواحی جنوبی و جنوب شرقی تهران و شمال کشور که از آب و هوای مطلوب‌تری برای پرورش و کشت گل و گیاه زینتی برخوردار است، قرار دارد. همچنین محلات و قمصر در استان مرکزی نیز از قطب های مهم تولید این محصول در کشور می‌باشند (خلیقی، ۱۳۷۰).

در حال حاضر مازندران به علت دارا بودن شرایط آب و هوایی معتدل و مساعد رشد و پرورش بسیاری از گیاهان و گل‌ها به یکی از مراکز مهم تولیدات گیاهی کشور تبدیل شده‌است. احداث گلخانه‌ها در این استان به خصوص در غرب مازندران، شرایط نگهداری گل‌ها و گیاهان را در فصول سرد سال امکان‌پذیر می‌نماید. براساس آمارهای موجود، سطح زیر کشت گلخانه‌های گیاهان زینتی در ایران ٤٦٥٤١٨٨٤ مترمربع و در مازندران ٥٢٩٣٨٨٦ مترمربع است که تولیدات آن ٨٢٥٣٩٤٣ عدد شاخه بریده، گل گلدانی، پیاز و پیازچه از کل تولیدات گل‌های زینتی کشور است (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۵).

در مورد بیماریها، بیماری غالب در گلخانه‌های غرب مازندران بیماری باکتریایی پوسیدگی نرم است. گرچه بیماریهای قارچی مثل انواع سفیدک‌ها و لکه‌برگی‌ها هم در این بین به صورت گسترده دیده می‌شود. پوسیدگی نرم توسط آنزیمهای لیزکننده مانند پروتئازها، پلی‌گالاکترونازها و پکتات‌لیازهای مترشحه از باکتری عامل بیماری صورت می‌پذیرد (Ni *et al.*, 2009).

آب آزاد برای توسعه بهتر بیماری حتی در درجه حرارت مناسب و شرایط محدودکننده برای اکسیژن، ضروریست. در بیمارگر *Pectobacterium carotovorum* شدت بیماری‌زایی با تحریک آن در ارتباط است (Mulholand *et al.*, 1993). کنترل پکتوباکتریوم‌ها به علت حضور این پاتوژن‌ها در بافت‌های گیاهی و اندوفیت بودن در خاک، بسیار مشکل است (Wright & Burge,2000؛ Wright *et al.*, 2005؛ Duffy, 2006). گرچه روشهای مختلف زراعی، شیمیایی، مکانیکی و بیولوژیکی برای کنترل این پاتوژن ها معرفی شده اما طبق تحقیقات این پاتوژن‌ها خاکزاد و بذرزاد بوده و همچنین از طریق خاک آلوده، بقایای گیاهی آلوده و بذر آلوده می تواند به سایر گیاهان و همچنین از طریق فعالیت‌های زراعی به‌صورت ثانویه انتقال یابد (Aysan *et al.*, 2001). با وجود این روشی مطمئن که بتواند این پاتوژن را به‌صورت مؤثر کنترل کند معرفی نشده‌است.

از روشهای کنترل این پاتوژن می توان به تولید ارقام مقاوم و مدیریت از طریق روشهای به زراعی، شیمیایی و بیولوژیکی اشاره کرد. در ارتباط با تولید ارقام مقاوم، موارد شناخته شده‌ای مانند زمان‌بر بودن، پرهزینه بودن و ناپایداری ارقام تولیدی حائز اهمیت می‌باشند (Ni *et al.*, 2009). استفاده از ترکیب‌های شیمیایی مثل ترکیب‌های مسی و ETA به‌رغم کاربرد وسیع در کنترل پکتوباکتریوم‌ها از کارآیی کمتری برخوردار بوده‌است. آنتی‌بیوتیک‌ها دارای تأثیرخوب، هزینه بالا و کاربرد مخاطره‌آمیز دارد. یکی از اهداف جدید تحقیقات یافتن راه‌حل‌های طبیعی برای مدیریت پاتوژن هاست. کنترل بیولوژیک با توجه به بی‌خطر بودن برای محیط زیست، مؤثرترین روش مدیریت بیماریهای گیاهی به حساب می‌آید (Bargabus *et al.*, 2003). استفاده از آنتاگونیست‌ها و عصاره‌های گیاهی از موارد امیدبخش فراروی است. اگرچه تعداد زیادی از استرین‌های باکتریایی، فعالیت آنتاگونیستی مناسب در شرایط

Archive of SID

www.SID.ir

آزمایشگاه دارند، اما فقط یک درصد آنها را می توان در کنترل بیولوژیک در شرایط گلخانه بکار برد (Yang *et al.*, 2008). اما در خصوص اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی، خاصیت ضدمیکروبی آنها از دیرباز شناخته شده بود. استفاده از اسانس ها و عصاره های گیاهی به‌عنوان حشره‌کش‌های تماسی یا تدخینی علیه آفات انباری و خاصیت علف‌کشی (Tworkoski, 2002) مورد تأیید بوده‌است. اما در سال‌های اخیر مدیریت بیماریهای گیاهی با سموم دارای منشأ گیاهی نیز مورد توجه قرار گرفته‌است. از زمره تحقیقاتی که در جلوگیری از بیمارگرهای مستقر در خاک صورت گرفته‌است می توان به بررسی اثر ترکیب‌های گیاهی علیه قارچ‌های *Phytophthora* (Olanya & Larkin, 2006؛ Ferrari *et al.*, 2007) و *Fusarium* (Chand & Singh, 2005) و باکتری *Ralstonia* (Momol *et al.*, 2005) و نماتدهای انگل گیاهی *Meloidogyne* (Kumar *et al.*, 2000؛ Dochul & Sang Chan, 2004؛ Perveen *et al.*, 2007) و *Rotylenchus* (Shukla & Haseeb, 2004) اشاره کرد. در زمینه بررسی اثر این ترکیب‌ها روی باکتریهای بیمارگر *Pectobacterium* تحقیقات محدودی انجام شده‌است که می توان به ترکیب های موجود در اسانس و عصاره های گیاهی آویشن، میخک، لمون، رزماری، گل رز، اکالیپتوس، سیر، نعناع، کنوپودیوم (El-Zemity *et al.*, 2008)، اسانس پونه، زیره سیاه، نعناع، بید (Vasinauskiene *et al.*, 2006)، اسانس نعناع، آویشن، زیره سیاه، اکالیپتوس، کنوپودیوم (Hassanein & Eldoksch, 1997)، اسانس اسطوخودوس، نعناع، پونه و رزماری (Vokou *et al.*, 1993) و اسانس مرزنجوش (Deans & Svoboda, 1990) اشاره نمود. مکانیسم عمل بیشتر ترکیب های ضدمیکروبی واکنش با دیواره سلولی، غیرفعال کردن آنزیم‌های ضروری و تخریب و غیرفعال کردن ژنوم می باشد (Fitzgerald *et al.*, 2004).

مواد و روشها

جداسازی و شناسایی عوامل بیماری‌زا

طی سال‌های ۸۹-۱۳۸۷ از گلخانه های بزرگ و فضای سبز کشت و پرورش گل ها و گیاهان زینتی در غرب مازندران بازدید و از گیاهان مشکوک به پوسیدگی نرم نمونه‌برداری شد. نمونه‌های آلوده برگ، ساقه، ریشه و غده پس از شستشوی اولیه با آب، به‌وسیله الکل ۷۰٪ به مدت ۱ دقیقه ضدعفونی سطحی شدند، سپس با آب مقطر استریل شستشوی سطحی شدند. از مرز بین بافت سالم و آلوده قطعاتی جداسازی شد و در هاون استریل عصاره آن گرفته شد. عصاره حاصل به لوله‌های حاوی ۱۰ml آب مقطر استریل منتقل شد و پس از شیکر شدن، ۱ لوپ از سوسپانسیون حاصل روی محیط کشت مغذی NA به‌صورت مخطط کشت شد. پتری‌ها به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۲۵°C نگهداری شدند و به‌صورت روزانه مورد بررسی قرار گرفتند. بعد از این مدت تک کلنی‌هایی که از لحاظ مرفولوژیکی متفاوت بودند، انتخاب و روی محیط کشت مغذی خالص‌سازی شدند. پس از انجام آزمون های بیوشیمیایی، ۲۶ جدایه به‌عنوان پکتوباکتریوم شناسایی شد و برای اثبات بیماری‌زایی مورد ارزیابی‌های تکمیلی قرار گرفتند.

آزمون بیماری‌زایی روی ایزوله‌های پکتوباکتریوم به سه روش زیر انجام شد:

Archive of SID

www.SID.ir

در سطح آزمایشگاه

تمامی جدایه‌های شناخته شده به‌عنوان پکتوباکتریوم

روی دیسک‌های سیب‌زمینی، برای آزمون لهیدگی مورد آزمایش قرار گرفتند. در این روش ابتدا غده سیب‌زمینی توسط الکل ۷۰٪ ضدعفونی شد و بعد دیسک هایی از آن تهیه و با سوسپانسیون باکتری با غلظت ۱۰۸cfu/ml تلقیح شدند. تولید یا عدم تولید پوسیدگی نرم ۴۸-۲٤ ساعت بعد از تلقیح مورد ارزیابی قرار گرفت.

تلقیح به ساقه گیاه میزبان

در این آزمون بیماری‌زایی، یک استرین باکتریایی به‌عنوان نماینده انتخاب شد (استرین ۳۵) و روی میزبان گیاه سینگونیوم که ایزوله از آن جدا شده بود تلقیح شد. از سوسپانسیون ۱۰۸cfu/ml جدایه ۳۵ برای تلقیح روی دیسک های تهیه شده از ساقه گیاه سینگونیوم استفاده شد و نتایج ٤۸-۲٤ ساعت بعد از تلقیح بررسی شد.

در سطح گلخانه

سوسپانسیون 10^{8}cfu/ml باکتری جدایه ۳۵، توسط سرنگ به طوقه گیاه سینگونیوم تلقیح شد و بعد محل تلقیح توسط پنبه مرطوب و پارافیلم پوشانیده شد تا رطوبت آن حفظ شود (Dichey, 1979).

بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس‌های گیاهی و آنتی‌بیوتیک‌ها در شرایط آزمایشگاه

آزمون حساسیت به اسانس‌ها

کلیه اسانس‌های مورد استفاده در این روش از شرکت کشت و صنعت گلکاران تهیه شد. در این روش دیسک های کاغذی در محلول‌های بدست‌آمده از چهار رقت اسانس خالص، ۰/۱mg/ml، ۰/۰۱mg/ml و ۰/۰۰۱mg/ml آغشته و روی محیط کشت مغذی NA قرار داده شدند. پس از ۳-۲ ساعت از جذب اسانس توسط محیط کشت، پتری‌ها توسط سوسپانسیون ۱۰۸cfu/ml باکتری جدایه ۳۵ اسپری شدند. پس از ۴۸-۲٤ ساعت نگهداری در دمای ۲۵°C میزان هاله بازدارندگی برای هر رقت اندازه‌گیری شد (جدول ۱). همزمان حداقل میزان بازداری رقت مورد نظر مورد بررسی قرار گرفت. این آزمون در چهار تکرار برای رقت‌های مختلف اسانس‌ها انجام شد.

برای رقیق‌سازی اسانس‌ها به دلیل غیرحلال بودن در آب، از متانول استفاده شد و با توجه به رقت مورد نیاز نسبت‌های مختلف آب و حلال تهیه شد.

از آنجا که اسانس‌ها روی بافت‌های گیاهی اثر گیاه‌سوزی دارند، لازم بود یکسری آزمایش برای تعیین رقت مناسب با هدف حذف و یا کاهش اثر گیاه سوزی و درعین حال کنترل پوسیدگی نرم توسط اسانس‌های مورد نظر انجام بگیرد. بدین منظور دیسک‌هایی از ساقه گیاه میزبان سینگونیوم تهیه شد و به مدت ۳-۲ دقیقه در رقت‌های تهیه شده اسانس‌ها قرار داده شدند و بدین ترتیب رقتی که فاقد عارضه گیاه سوزی بود، تعیین و انتخاب گردید.

آزمون حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌ها

برای انجام این آزمون روی محیط کشت مغذی NA دیسک‌های آغشته به رقت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک اریترومایسین و استرپتومایسین در فواصل مناسب قرار داده شدند و پس از ۳-۲ ساعت از نشت آنتی‌بیوتیک در محیط کشت، سطح پتری توسط سوسپانسیون ۱۰۸cfu/ml جدایه ۳۵ به‌صورت یکنواخت اسپری شد و پس از ٤۸

Archive of SID

www.SID.ir

ساعت، قطر هاله بازدارنده اطراف دیسک‌ها اندازه‌گیری شد (Schaad, 1988). رقت‌های بکار رفته برای آنتی‌بیوتیک‌ها شامل رقت ۱۵mg/disk، ٤۰mg/ml و ٤۰۰mg/ml از اریترومایسین و رقت‌های ۰/۰۱mg/ml، ۰/۰۲mg/ml و ۰/۰۳mg/ml استرپتومایسین بوده‌است (جدول ۲).

بررسی اثر ضد باکتریایی اسانس‌های گیاهی و آنتی‌بیوتیک‌ها در شرایط گلخانه

در آزمایش مربوط به مدیریت گلخانه‌ای ابتدا خاک و گلدان‌ها استریل و بعد قلمه‌های گیاه سینگونیوم در این گلدان‌ها کشت شدند. پس از ریشه‌دار شدن قلمه‌ها (۳-۲ ماه) قسمت‌های انتهایی ریشه‌ها قطع شده و در درون رقت‌های ۰/۱mg/ml، ۰/۰۱mg/ml و ۰/۰۰۱mg/ml اسانس‌ها و رقت‌های ۰/۰۱mg/ml، ۰/۰۲mg/ml و ۰/۰۳mg/ml آنتی‌بیوتیک استرپتومایسین و رقت‌های ٤۰mg/ml و ٤۰۰mg/ml اریترومایسین به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شدند. سپس برای مدت ۱۵ دقیقه در سوسپانسیون ۱۰۸cfu/ml باکتری پاتوژن جدایه ۳۵ قرار داده شدند. به‌طور کلی برای هر تیمار ٤ تکرار در نظر گرفته شد. قلمه‌های تیمار شده در گلدان‌ها کشت شدند (Aysan *et al.*, 2001). شاهدهای منفی با آب مقطر تیمار شدند. گلدان‌ها در دمای ۲۵°C و رطوبت نسبی ۷۰٪ نگهداری شدند. بعد از گذشت ٤-۳ هفته میزان پوسیدگی ریشه، وزن کل ریشه، حجم ریشه و طول ریشه در تیمارهای اسانس و آنتی‌بیوتیک در مقایسه با شاهد اندازه‌گیری و ثبت شد (Aysan *et al.*, 2001). برای انجام این آزمون از طرح بلوک‌های به‌طور کامل تصادفی در ۹ تیمار با ٤ تکرار استفاده شد (جدول ۳).

نتایج

بررسی حساسیت به آنتی‌بیوتیک‌ها

باکتری 35 *P. carotovorum* حساسیت مختلفی را نسبت به رقت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک‌های اریترومایسین و استرپتومایسین نشان داد. بیشترین میزان بازدارندگی آنتی‌بیوتیک مربوط به اریترومایسین ۱۵mg/disk با ۱۵ میلی‌متر هاله بازدارنده رشد بود (شکل ۱ و جدول ۲).

حساسیت به اسانس‌ها

نتایج بدست آمده نشان داد که جدایه ۳۵ به‌ترتیب بیشترین حساسیت را به اسانس آویشن با ۱۲ میلی متر و به مرزه با ۱۰ میلی متر هاله بازدارنده دارد. به‌علاوه اسانس آویشن و مرزه در رقت ۱۰mg/ml-۱، به‌ترتیب دارای قدرت بازدارندگی ۷-۵ میلی‌متر و ۵-۳ میلی‌متر و در رقت‌های ۱۰mg/ml-۲ و ۱۰mg/ml-۳ فاقد قدرت بازدارندگی مناسب بودند (جدول ۱).

با توجه به نتایج تیمارهای مربوط به شرایط گلخانه، بیشترین میزان رشد ریشه‌ها مربوط به تیمار اریترمایسین ٤۰۰mg/ml با مقدار متوسط ۷۰ میلی‌متر بود (جدول ۳).

شکل ۱- میزان هاله بازدارنده رشد باکتری *Pectobacterium carotovorum* توسط اریترومایسین با دوز ۱۵mg/disk

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- میزان حساسیت جدایه *P. carotovorum* 35 در برابر رقت‌های مختلف اسانس‌های گیاهی، هاله بازدارندگی رشد در رقت‌های مختلف اسانس (mm)

ردیف	رقت / اسانس	اسانس خالص	رقت 0.1 mg/ml	رقت 0.01 mg/ml	رقت 0.001 mg/ml
۱	آویشن	۱۲	۵-۷	۰-۳	۰
۲	مرزه	۱۰	۳-۵	۱-۲	۰
۳	زنیان	۷-۱۰	۰-۳	۰	۰
٤	اکالیپتوس	۷-۱۰	۰	۰	۰
۵	شوید	۵-۷	۰	۰	۰
٦	زیره سبز	۵-۷	۰	۰	۰

جدول ۲- میزان بازدارندگی آنتی‌بیوتیک‌های بکار رفته علیه جدایه *P. carotovorum* 35

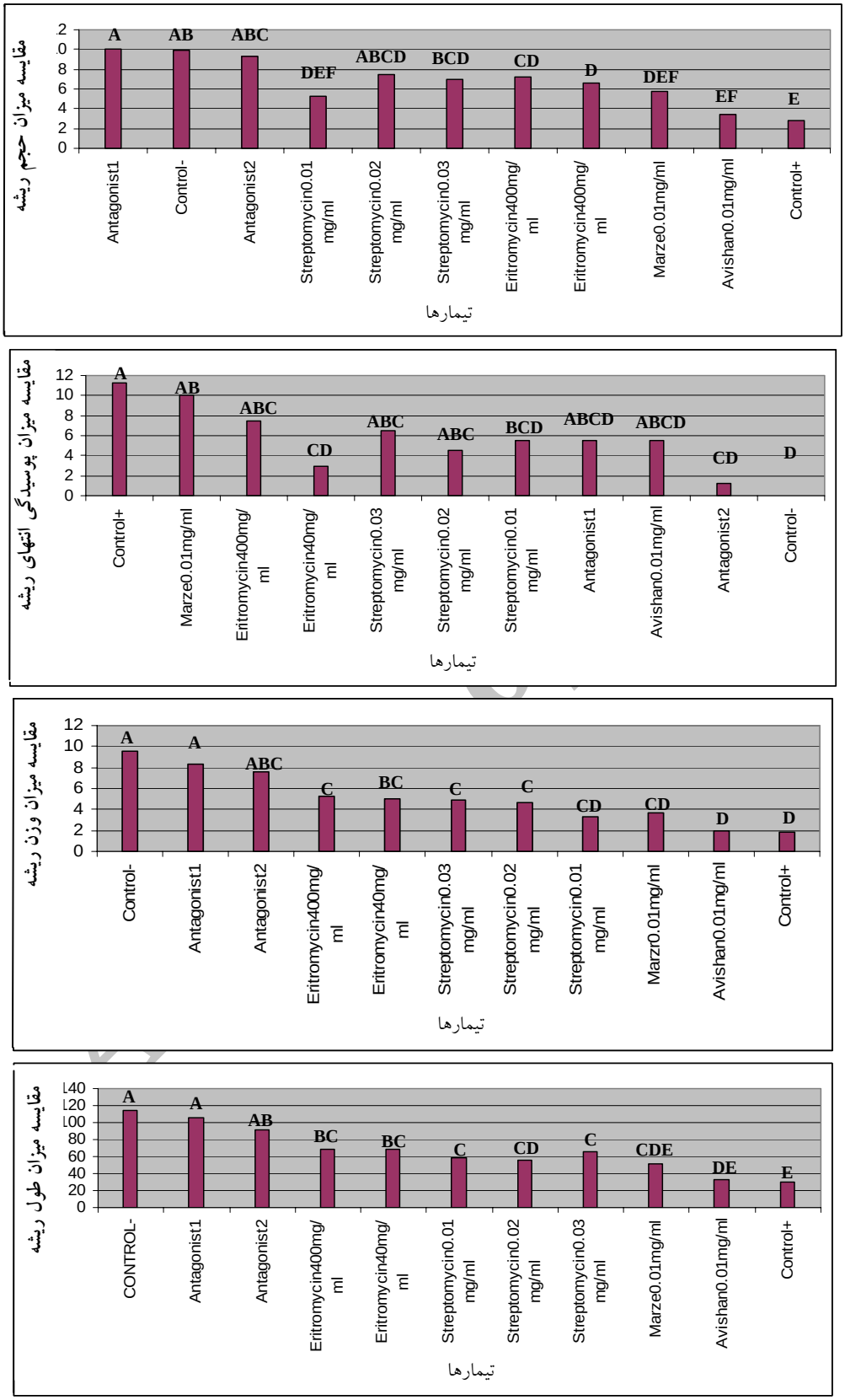
آنتی‌بیوتیک	مقدار آنتی‌بیوتیک	میزان هاله بازداری رشد (mm)
اریترومایسین	۱۵mg/disk	۱۵
اریترومایسین	٤۰۰mg/ml	۳-۵
اریترومایسین	٤۰mg/ml	۰
استرپتومایسین	۰/۰۱mg/ml	۰
استرپتومایسین	۰/۰۲mg/ml	۰
استرپتومایسین	۰/۰۳mg/ml	۰

جدول ۳- میانگین تأثیر تیمارهای اسانس و آنتی‌بیوتیک در مقایسه با شاهد در میزان پوسیدگی ریشه، وزن کل ریشه، حجم ریشه و طول ریشه گیاه سینگونیوم

ردیف	تیمارها (ppm)	طول ریشه (mm)	طول پوسیدگی (mm)	وزن ریشه (gr)	حجم ریشه (cm^3)
۱	استرپتومایسین ۰/۰۱mg/ml	۵۸	۵/۵	۳/۳۵	۵/۲۲
۲	استرپتومایسین ۰/۰۲mg/ml	۵۵/۵	٤/۵	٤/٦	۷/٤۲
۳	استرپتومایسین ۰/۰۳mg/ml	٦٦/۲۵	٦/۵	۵	۷
٤	اریترومایسین ٤۰mg/ml	٦۸	۳	۵/۳	۷/۲۵
۵	اریترومایسین ٤۰۰mg/ml	٦۹	۷/۵	۵	٦/٦
٦	مرزه ۰/۰۱mg/ml	۵۰/۷۵	۱۰	۳/۷	٦/۷۵
۷	آویشن ۰/۰۱mg/ml	۳۲/۵	۵/۵	۲	۲
۸	شاهد منفی (آب مقطر)	۸۲	-	٦/۷۵	۷/۵
۹	شاهد مثبت (استرین نماینده)	۲۳	۱۱/۲۵	۱/۸۲	۲/۸

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- مقایسه میزان حجم و وزن ریشه وطول ریشه و میزان پوسیدگی انتهای ریشه در تیمارهای مختلف

www.SID.ir

بحث

نتایج تحقیقات حاضر نشان داد عامل اصلی پوسیدگی گیاهان زینتی در گلخانه‌های شمال باکتری *Pectobacterium carotovorum* است. بنابراین جدایه ۳۵ که دارای بیشترین خصوصیات ذکر شده باکتری *Pectobacterium carotovorum*، همچون اکسیداز منفی، کاتالاز مثبت، دارا بودت قدرت لهاندن برش‌های سیب‌زمینی، ایندول و آرژنین منفی، O/F مثبت و غیره بود، برای ادامه کار انتخاب شد. در ارتباط با نتایج، آزمون‌های آزمایشگاهی نشان داد که در بین اسانس‌های مورد استفاده مقدار خالص اسانس‌های آویشن و مرزه به‌ترتیب با ایجاد هاله بازدارنده ۱۲ و ۱۰ میلی‌متر بیشترین میزان بازدارندگی را در بین اسانس‌های بررسی شده نشان دادند. اما دوز خالص این اسانس‌ها با وجود بازدارندگی مؤثر و کامل به دلیل گیاه‌سوزی در آزمایشهای تکمیلی گلخانه‌ای مورد ارزیابی قرار نگرفتند. نتایج بررسی‌های آزمایشگاهی نشان داد که مؤثرترین رقت اسانس برای بازداری رشد *Pectobacterium carotovorum* عامل پوسیدگی گل‌های زینتی، رقت ۰/۰۱mg/ml است (جدول ۱). در این رقت، هاله بازدارندگی مناسب و فاقد هر گونه عارضه گیاه‌سوزی بود. در بین اسانس‌های مورد مطالعه آویشن با ایجاد ۳ میلی‌متر هاله بازدارنده بیشترین میزان بازدارندگی را در رقت ۰/۰۱mg/ml نشان داد، گرچه مرزه نیز با تولید ۲-۱ میلی‌متر هاله بازدارنده در رقت ۰/۰۱mg/ml از قدرت بازدارندگی به نسبت خوبی برخوردار بود (جدول ۱). در میان آنتی‌بیوتیک‌ها، رقت ۱۵mg/disk اریترومایسین بیشترین هاله بازدارندگی را نشان داد که میزان هاله بازدارنده آن به‌طور تقریبی مشابه با هاله ایجاد شده توسط اسانس خالص آویشن بود و رقت ٤۰۰mg/ml آنتی‌بیوتیک اریترومایسین هاله بازدارنده‌ای به قطر ۳ میلی‌متر ایجاد کرد که به‌طور تقریبی مشابه هاله بازدارنده ایجاد شده توسط رقت ۰/۰۱mg/ml اسانس آویشن بود (جدول ۲). برای تکمیل نتایج، آزمایشهای گلخانه‌ای با اسانس‌های آویشن و مرزه و رقت‌های مختلف آنتی‌بیوتیک‌های معرفی شده ادامه یافت. براساس جدول ۳ و شکل ۲، تیمار اسانس آویشن در رقت بکار رفته ۰/۰۱mg/ml در مقایسه با رقت ۰/۰۱mg/ml مرزه و تیمار آنتی‌بیوتیک اریترومایسین در رقت ٤۰۰mg/ml در مقایسه با دیگر رقت‌های بکار رفته آنتی‌بیوتیک‌ها، بیشترین میزان رشد ریشه و کمترین میزان پوسیدگی را در بین سایر تیمارهای بکار رفته نشان دادند که تأییدی بر کار آزمایشگاهی به‌شمار می‌رود. با توجه به جدول ۳ میزان متوسط رشد ریشه در آویشن نسبت به مرزه رقم کمتری را نشان داد که این به‌دلیل گیاه سوزی اسانس آویشن و حذف یکی از تیمارهاست. براساس تحقیقات انجام شده در ایران (زیدآبادی، ۱۳۸۸) در مقایسه آزمایشگاهی چندین اسانس و آنتی‌بیوتیک روی عامل پوسیدگی نرم چغندر قند (*Pectobacterium betavascularum*)، اریترومایسین ۱۵ mg/disk با ایجاد هاله ۱٤-۱۳ میلی متر بیشترین هاله بازدارنده را در بین آنتی بیوتیک ها داشت و همچنین اسانس خالص آویشن و مرزه به‌ترتیب هاله‌های به‌طور تقریبی ۱۰ و ۷ میلی‌متری را نشان دادند و در رقت ۰/۰۱mg/ml این اسانس‌ها فاقد هاله بازدارنده بودند که در این تحقیق نتایجی به‌طور تقریبی مشابه بدست آمد (جدول ٤). همچنین Martino و همکاران (۲۰۰۹) از آویشن به‌عنوان یک کنترل‌کننده مؤثر علیه باکتریها نام برده‌است. این تحقیق و مقایسه آن با نتایج تحقیقات مشابه نشان داد که ترکیب‌هایی مانند

Archive of SID

www.SID.ir

اسانس‌های گیاهی و آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توانند کنترل‌کننده‌های به نسبت مناسبی برای عامل باکتریایی پوسیدگی نرم به‌شمار روند. استفاده از ترکیب‌های طبیعی علاوه‌بر کاهش خطر آلودگی محیط زیست، سیستم دفاعی میزبان را نیز فعال می‌کند و کنترل مؤثری را علیه پاتوژن به دنبال دارد. اما در حال حاضر این ترکیب‌ها در سطح وسیع به‌دلیل هزینه بالای تولید قابل استفاده نیستند. علاوه‌بر این، اسانس‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها در خاک سریع تجزیه می‌شوند در نتیجه برای پاتوژن‌های خاکزاد قابل‌استفاده نیستند. استفاده از این ترکیب‌ها در خاک باید به‌صورت ضدعفونی بذرها، قلمه‌ها و ریشه‌ها صورت گیرد. از این‌رو، پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آینده بررسی اثر این ترکیب ها روی پاتوژن‌های دیگر و مقایسه اثر آنها با سموم موجود انجام شود.

جدول ٤- مقایسه نتایج تحقیقات انجام شده با نتایج این تحقیق روی باکتری پکتوباکتریوم

کنترل‌کننده‌ها	هاله بازدارنده در تحقیقات انجام شده (mm)	هاله بازدارنده در این تحقیق (mm)
آویشن در مقدار خالص	۱۰	۱۲
آویشن در رقت ۰/۱ mg/ml	۵/۵	۵–۷
مرزه در مقدار خالص	۷	۱۰
مرزه در رقت ۰/۱ mg/ml	۰	۳–۵
زنیان در مقدار خالص	۱۲/۸۷	۷–۱۰
زنیان در رقت ۰/۱ mg/ml	۵/۵	۰–۳
اریترومایسین ۱۵ mg/disk	۱۵	۱٤–۱۵

منابع مورد استفاده

- آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۵. محصولات زراعی و باغی سال ۸۵-۸٤. اداره آمار و فن‌آوری اطلاعات، وزارت جهاد کشاورزی، جلد اول.
- خلیقی، الف.، ۱۳۷۰. گلکاری و پرورش گیاهان زینتی. انتشارات روزبهان، تهران،۳۹۲ صفحه.
- زیدآبادی، م، ۱۳۸۸. شناسایی و مدیریت عوامل مولد پوسیدگی نرم باکتریایی چغندرقند در استان کرمان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی. دانشگاه آزاد اسلامی- واحد دامغان.
- قاسمی قهساره، م.، ۱۳۸٦. گلکاری علمی و عملی. انتشارات گلبن، ۳٤٤ صفحه.
- Aysan, Y., Karatas, A. and Cinar, O., 2001. Biological control of bacterial stem rot caused by *Erwinia chrysanthemi* on tomato. Crop Protection, 22(6): 807-811.
- Bargabus, R.L., Zidack, N.K., Sherwood, J.E. and Jacobsen, B.J., 2003. Oxidative burst elicited by *Bacillus mycoides* isolate Bac J, a biological control agent, occurs independently of hypersensitive cell death in sugar beet. Molecular Plant Microbe Interactions, 16(12): 1145-1153
- Chand, H. and Singh, S., 2005. Control of chickpea wilt (*Fusarium oxysporum* fsp. *Ciceri*) using bioagents and plant extracts. Indian Journal of Agriculture Sciences, 75: 115-116.
- Duffy, B., 2006. Mechanisms of action for Biocontrol of Erwinia soft rot disease in: Biocontrol of Bacterial Plant Disease. Proceedings of the 1_{st} International Symposium on Biological Control of Bacterial Plant Diseases, 23-26 (2005) October, Seeheim/Darmstadt, Germany, 408.
- Deans, S.G. and Svoboda, K.P., 1990. The antimicrobial properties of marjoram (*Origanum majorana* L.) volatile oil. Flavour and Fragrance Journal, 5(3): 187-190.
- Dichey, R.S., 1979. *Erwinia chrysanthemi*: A comparative study of phenotypic properties of strains from several hosts and other *Erwinia* species. Phytopathoogy, 69: 324-329

Archive of SID
www.SID.ir

- DoChul, J. and Sang Chan, H., 2004. Biological control of the Northen root-knot nematode, Meloidogyne hapla in the fields of *Codonopsis Lanceolata*. Korean Journal of Applied Entomology 43: 27-34.
- El-Zemity, S.R., Radwan, M.A., Mohamed, S.A.E. and Sherby, S.M., 2008. Antibacterial screening of some essential oils, monoterpenoids and novel N-methyl carbamates based on monoterpenoids against *Agrobacterium tumefaciens* and *Erwinia carotovora*. Phytopathology and Plant Protection, 41: 451-461.
- Ferrari, A., Dubeshko, S., Vintel, H., David, D.R. and Elad, Y. 2007. Integration of biocontrol agents and natural products against tomato late blight. Bulletin OILB/SROP, 30: 437-440.
- Fitzgerald, D.J., Stratford, M., Gasson, M.J., Ueckert, J., Bos, A. and Narbad A., 2004. Mode of antimicrobial action of vanillin against *Escherichia coli*, Lactobacillus plantarum and Listeria innocua. Journal of Applied Microbiology, 97:104-113.
- Hassanein, F.M. and Eldoksch, H.A., 1997. Antibacterial action of carvone and some plant extracts on certain phytopathogenic bacteria and pathogenicity of *Agrobacterium tumefaciens*. Alexandria Jounal of Agricultural Research, 42: 127-136.
- Kumar, S., Kukreja, A.K., Dwivedi, S. and Singh, A.K., 2000. Suppressive response of a bioagent, organic material and pesticide on population development of *Meloidogyne incognita* on *Matricaria chamomile*. Journal of Medicinal and Aromatica Plant Sciences, 22: 649-651.
- Martino, L.D., Bruno, M., Formisano, C., Feo, V.D., Napolitano, F., Rosselli, S. and Senator, F., 2009. Chemical composition and activity of the eseential oils from two Species *Thymus* growing wild in Southern Italy. Molecules Journal, 14: 4614-4624.
- Momol, M.T., Olson, S.M., Hong, J., Pradhanang, P., Anith, K.N. and Jones, J.B., 2005. New tactics for bacterial wilt management on tomatoes in the Southern U.S Acta Horticulturae, 695: 153-159.
- Mulholand, V., Hinton, J.C., Sidebotham, J., Toth, I.K., Hyman, L.J., Perombelon, M.C., Reeves, P.J. and Salmond, G.P.C., 1993. A pleriotropic reduced virulence (Rvi) mutant of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* is defective in flagella assembly proteins that are conserved in plant and animal bacterial pathogens. MolMicrobiol. 9: 343-356.
- Ni, L., Li, X., Custers, J.B.M., Zhang, K. and Zhang, L., 2009. Response of arum lily calli to culture filtrate of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. African Journal of Biotechnology, 8(20): 5362-5366.
- Olanya, O. M. and Larkin, R.P., 2006. Efficancy of essential oils and biopesticides on *Phytophthora* infestans suppression in Laboratory and growth chamber studies. Biocontrol Science and Technology, 16: 901-917.
- Perveen, K., Haseeb, A. and Shukla, P.K., 2007. Efficacy of pesticides, neem seed powder and Biocontrol agents on *Meloidogyne incognita* and growth and oil yield of *Mentha arvensis*. Nemathologia Mediterranea, 35: 75-79.
- Schaad, N.W., 1988. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. APS Press, 164p.
- Shukla, P.K. and Haseeb, A., 2004. Studies on occurrence, pathogenic potential and management of reniform nematode on spearmint. Indian Journal of Nematology, 34: 140-146.
- Tworkoski, T., 2002. Herbicide effects of essential oils. Weed Science, 50: 425-431.
- Vasinauskiene, M., Radusiene, J., Zitikaite, I. and Surviliene, E., 2006. Antibacterial activities of essential oils from aromatic and medical plants against growth of phytopathologenic bacteria. Agronomy Research, 4: 437-440.
- Vokou, D., Vareltzidou, S. and Katinakis, P., 1993. Effects of aromatic plants on potato storage: sprout suppression and antimicrobial activity. Agriculture, Ecosystems and Environment, 47(3): 223-235.
- Wright, P.J. and Burge, G.K., 2000. Irrigation, Sawdust mulch, and Enhance biocide affects soft rot incidence and flower and tuber production of calla. Newzealand Journal of Crop and horiticultural Science, 28(3): 225-231
- Wright, P.J., Triggs, C.M. and Burge, G.K., 2005. Control of bacterial soft rot of calla (*Zantedeschia* spp.) by pathogen exclusion, elimination and removal. New Zealand Journal of Crop and Horiticultural Science, 33: 117-123.
-Yang, J.H., Liu, H.X., Zhu, G.M., Xu, L.P., Pan, Y.L. and Guo, J.H., 2008. Diversity analysis of antagonists from rice associated bacteria and their application in biocontrol of rice diseases. Journal of Applied Microbiology, 104: 91-104.

Archive of SID

www.SID.ir

The management of soft rot disease of syngonium caused by *Pectobacterium carotovorum* using some essential oils and antibiotics under laboratory and greenhouse conditions

S. Sayad[1*], N. Hassanzadeh[2], A. Ghasemi[3] and E. Nazerian[4]

1*- Corresponding author, MSc. Student, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
E-mail: asmanaby20@yahoo.com
2- Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3- Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran
4- Markazi Agricaltural and Natural Resource Research Center, Arak, Iran

Received: April 2011 Revised: July 2011 Accepted: July 2011

Abstract

In order to control soft rot disease of syngonium ornamental plant caused by *Pectobacterium carotovorum*, six essential oils namely, thym, Summer savory, Anise, Eucalyptus, Dill, Cumin and two antibiotics of erythromycin and streptomycin were evaluated under laboratory and greenhouse conditions. MICs of all essential oils were determined and different concentrations of each compound were prepared. In laboratory assays, among 6 different concentrations of essential oils, pure thym oil with 15mm inhibition zone and erythromycin (15mg/disk) with 15mm inhibition zone exhibited the most antibacterial activities. On the other hand, erythromycin (400mg/ml) with 3-5 mm inhibition zone showed the same result as treated with thym essential oil (10^{-2}). The syngonium seedlings treated with erythromycin (400mg/ml) gave a healthy and long root growth of 70mm and 3mm of soft rot symptoms on roots. The seedlings treated with thym oil promoted root growth to 32mm and soft rots of 7mm. According to the results, erythromycin and thym oil were identified as the most effective compounds compared to the others.

Key words: Soft rot, essential oil, antibiotic, *Pectobacterium*.

Archive of SID

www.SID.ir