

تأثیر کاربرد قل از برداشت نسبت‌های مختلف نیترات به آمونیوم و کلسیم بر حساسیت گل بریده رز به کپک خاکستری ناشی از

* *Botrytis cinerea*

Effects of pre-harvest application of different nitrate to ammonium ratios and calcium levels
on susceptibility of cut rose flowers to gray mold caused by *Botrytis cinerea*

شهرام کیانی، عزیزاله علیزاده، محمد جعفر ملکوتی **، غفور زاده‌دیاغ و سید جلال طباطبایی
دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

دریافت ۱۳۸۶/۴/۲۰ پذیرش ۱۳۸۷/۸/۸

چکیده

بیماری کپک خاکستری ناشی از *Botrytis cinerea* یکی از مشکلات عمده تولید گل رز در گلخانه‌های سراسر دنیا و از جمله ایران می‌باشد. به منظور مطالعه تاثیر نسبت‌های مختلف نیترات به آمونیوم و غلظت کلسیم در محلول غذایی بر حساسیت گل رز به این بیماری سه آزمایش طی سالهای ۱۳۸۶ تا ۱۳۸۴ در مرکز تحقیقات کشاورزی صفوی‌آباد انجام شد. براساس نتایج آزمایش‌های اول و دوم، یک جدایه و غلظت مناسب از آن با توان بیماریزایی خوب برای ایجاد آلدگی مصنوعی انتخاب شد. آزمایش سوم به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو عامل نسبت نیترات به آمونیوم با سه سطح ۷۵:۲۵، ۱۰۰:۰۰ و ۵۰:۵۰ و کلسیم با دو سطح ۱/۶ و ۴/۸ میلی مولار در محلول غذایی با چهار تکرار بر روی بوته‌های رز در شرایط هیدروپونیک اجرا شد. در طول دو دوره گلدهی، گلهای از تیمارهای مختلف برداشت و با سوسپانسیون ^۴ اسپور در میلی لیتر جدایه انتخابی مایه‌زنی شد. نتایج نشان داد افزایش غلظت آمونیوم محلول غذایی تا ۵۰ درصد نیتروژن مصرفی منجر به افزایش ۳۲ درصدی

* بخشی از رساله دکتری نگارنده اول ارائه شده به دانشگاه تربیت مدرس

** مسئول مکاتبه

شدت بیماری کپک خاکستری گل رز ($P < 0.01$) به دلیل کاهش غلظت کلسیم گلبرگها شد. در مقابل با افزایش کلسیم در محلول غذایی از $1/6$ به $4/8$ میلی‌مولار، شدت بیماری از $29/1$ به $23/2$ درصد/روز کاهش یافت ($P < 0.01$). همچنین یک همبستگی منفی و معنی دار ($P < 0.05$) بین غلظت کلسیم گلبرگها و شدت بیماری مشاهده گردید ($r^2 = 0.78$). بنابراین با عنایت به نتایج حاصله، می‌توان با افزایش نسبت نیترات به آمونیوم تا حد $100:00$ و نیز کلسیم تا حد $4/8$ میلی‌مولار در محلول غذایی، حساسیت گل رز را در شرایط هیدرопونیک به بیماری کپک خاکستری به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش داد.

واژه‌های کلیدی: کپک خاکستری، *Botrytis cinerea* L., گل رز (*Rosa hybrida* L.), نسبت نیترات به آمونیوم، کلسیم

مقدمه

بیماری کپک خاکستری که توسط *Botrytis cinerea* Pers.: Fr ایجاد می‌گردد یکی از مشکلات عمدۀ تولید گل رز (*Rosa hybrida* L.) در گلخانه‌های سراسر دنیا (Volpin & Elad, 1991) و از جمله ایران (Ershad 1995) است. عامل بیماری عمدتاً به گلهای حمله کرده و سبب ایجاد آسیب‌های نکروتیک در دمگل و گلبرگها می‌شود (Volpin & Elad 1991). گلبرگ گلهای آلوده در اثر بیماری کوچکتر شده و لکه‌های رنگی که عمدتاً توسط حاشیه قرم احاطه شده‌اند، به صورت لکه‌های نامنظم و بزرگ گسترش می‌یابند که با تداوم رطوبت و دمای پایین توسط میسیلیوم‌های خاکستری قارچ عامل پوشیده می‌شوند (Elad 1997). این بیماری از آن جهت اهمیت دارد که آلودگی‌های پنهان ایجاد شده نوعاً در هنگام برداشت گل رز قابل رویت نیستند، اما تحت شرایط مرطوب و در گلهای باز شده به سرعت گسترش می‌یابند. خسارت شدید اقتصادی به هنگام نگهداری گلهای در انبار و یا به هنگام حمل و نقل رخ داده و مالاً گلهای آلوده قابلیت فروش در بازار را از دست می‌دهند (Elad 1988; Hammer 1988).

اخیراً راهکارهای زیادی برای کترول بیماری نظری استفاده از قارچ‌کش‌ها برای انهدام و یا جلوگیری از رشد بیمارگر بکار گرفته شده است. با توجه به محدودیت‌های وضع شده در کاربرد سوم قارچ‌کش به جهت ملاحظات زیست محیطی و ظهور مقاومت در جمعیتهای بیمارگر نسبت به آنها (Katan 1982)، شناسایی مکانیسم‌های دفاعی نسبت به قارچ عامل بیماری مورد توجه خاصی

قرار گرفته است (Elad & Evensen 1995). بعد از کوتیکول که اولین سد دفاعی گیاه می‌باشد، دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی سدهای بعدی گیاه در برابر نفوذ میسیلیوم‌های قارچ *B. cinerea* می‌باشند. بنابراین افزایش استحکام ساختمان دیواره سلولی و بهبود فعالیت غشای سیتوپلاسمی می‌تواند در کاهش خسارت بیماری نقش مهمی داشته باشد (Elad & Evensen 1995). کلسیم از جمله عناصر غذایی است که وظایف مهمی در استحکام بخشیدن به دیواره سلولی و تنظیم تراوایی غشای سیتوپلاسمی به عهده دارد (Marschner 1995). نقش کلسیم در کاهش خسارت بیماری کپک خاکستری در محصولات مختلف به خوبی شناخته شده است (Elad & Shtienberg 1995). افزایش میزان کلسیم در محلول غذایی منجر به افزایش غلاظت کلسیم در اندامهای گل رز و کاهش حساسیت آن به بیماری کپک خاکستری شده است (Volpin & Elad 1991; Bar-Tal *et al.* 2001). همچنین محلول پاشی با سولفات کلسیم قبل از برداشت به عنوان ابزاری برای کترل بیماری کپک خاکستری گل رز عنوان شده است (Capdeville *et al.* 2005). بنابراین با توجه به نتایج تحقیقات انجام شده به نظر می‌رسد افزایش غلاظت کلسیم در محلول غذایی می‌تواند به عنوان راهکاری برای کاهش خسارت بیماری کپک خاکستری در گلهای بریده رز باشد. اما جذب کلسیم از محلول غذایی توسط گیاه تحت تاثیر شکل نیتروژن قرار دارد (Kirkby 1979; Woodson & Boodley 1982; Rothstein & Cregg 2005).

نیترات و آمونیوم دو شکل عمدۀ نیتروژن قابل دسترس گیاه محسوب می‌شوند. کاربرد آمونیوم نه تنها بر رشد گیاه تاثیر دارد، بلکه بر جذب عناصر غذایی توسط گیاه هم موثر است. با کاربرد آمونیوم، جذب آئیونها نسبت به کاتیونها افزایش یافته و بالعکس با مصرف نیترات، جذب کاتیونها بر آئیونها برتری می‌یابد (Marschner 1995). بنابراین استفاده از آمونیوم در مقایسه با نیترات، جذب کاتیونها کاهش جذب کلسیم توسط گل رز می‌گردد (Woodson & Boodley 1982). براساس تحقیقات انجام شده، باقلاً کوددهی شده با آمونیوم در مقایسه با نیترات، حساسیت بیشتری نسبت به کپک خاکستری نشان داد (Sol 1967). در خیار کاربرد توام کلسیم و نیترات در محلول غذایی منجر به افزایش مقاومت به کپک خاکستری گردید. اما منبع نیتروژن تاثیری بر حساسیت گیاهان بادمجان و فلفل به کپک خاکستری نداشت (Elad *et al.* 1993). نظر به اینکه تاکنون تحقیقی در این خصوص انجام نشده، لذا این پژوهش به منظور بررسی تاثیر توام نسبت‌های

مختلف نیترات به آمونیوم و سطوح متفاوت کلسیم در محلول غذایی بر حساسیت گل رز به بیماری کپک خاکستری اجرا شد.

روش بررسی

۱- انتخاب جدایه

۱-۱- انتخاب جدایه بیماریزا: به منظور انتخاب جدایه‌ی *B. cinerea* با توان بیماریزا بی خوب و تعیین غلظت مناسب اسپور برای ایجاد آلودگی مصنوعی دو آزمایش انجام شد. آزمایش اول با هدف تعیین قدرت بیماریزا بی جدایه‌های مختلف *B. cinerea* در قالب طرح کامل تصادفی با ۱۱ تیمار شامل جدایه‌های مختلف این قارچ و با سه تکرار در سال ۱۳۸۵ در مرکز تحقیقات کشاورزی صفائی آباد اجرا گردید. جدایه‌های مورد استفاده از مراکز اصلی تولید گل رز در ایران شامل لاهیجان (دو جدایه A_2 و A_3)، محلات (دو جدایه A_4 و A_5) و دزفول (هفت جدایه با عالم اختصاری A_6 تا A_{12}) جمع‌آوری و خالص‌سازی شده بودند. لازم به ذکر است که جدایه‌های مربوط به لاهیجان و محلات از گروه بیماری‌شناسی گیاهی دانشگاه تربیت مدرس تهیه شدند. همچنین برای تهیه جدایه از دزفول در طول زمستان ۱۳۸۴ ضمن بازدید از گلکارهای این منطقه نسبت به جمع‌آوری گلهای رز آلوده به کپک خاکستری اقدام شد. بدنبال آن گلهای درون پاکت کاغذی قرار داده شده و به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس نسبت به کشت نمونه‌های آلوده به کپک خاکستری از قسمت گلبرگ گلهای اقدام شد. بدنبال آن نمونه‌ها در داخل انکوباتور با دمای 20 ± 1 درجه سانتیگراد و تحت نور ثابت فلورستن قرار داده شدند. در فاصله زمانی ۷ الی ۱۰ روز پس از کشت و بعد از اطمینان از اسپورزایی قارچ، اقدام به خالص‌سازی جدایه‌ها به طریقه کشت تک اسپور (Single spore) شد. بدین منظور از هر کدام از نمونه‌ها سوسپانسیون اسپور تهیه و اسپورها در سطح محیط کشت Water agar یک درصد پخش شدند. بعد از ۲۴ ساعت تک اسپورهای جوانه‌زده به محیط کشت PDA منتقل شدند. محیط‌های کشت جدید به انکوباتور منتقل شده و پس از ۷ الی ۱۴ روز، از رشد هر تک اسپور یک جدایه خالص قارچ بدست آمد. بدین ترتیب جمما هفت جدایه از دزفول تهیه شد. کلیه جدایه‌های جمع‌آوری شده پس از خالص‌سازی، براساس خصوصیات مرفو‌لژیکی و باستاند اطلاعات ارائه شده (Beever & Weeds 2004; Elad *et al.* 2004; Mirzaei 2006) تعیین هویت

گردیده و به عنوان گونه *Botrytis cinerea* تشخیص داده شدند. به منظور اجرای آزمایش اول جدایههای مختلف پس از کشت در محیط PDA در دمای 20 ± 1 درجه سانتیگراد و تحت نور ثابت فلورستن نگهداری شدند. عمل مایوزنی با استفاده از اسپورهای تولید شده در روز چهاردهم بعد از کشت انجام شد (Volpin & Elad 1991). بدین منظور هر محیط کشت سه مرتبه با آب مقطر سترون شستشو داده شده و پس از حذف اندامهای رویشی قارچ با استفاده از پارچه ململ و فیلترهای کنفی سترون شده، یک سوسپانسیون با غلظت 10^7 اسپور در میلی لیتر از هر یک از جدایهها تهیه شد. بدنبال آن شاخههای یکنواخت گل بریده رز رقم Vendetta در مرحله برداشت اقتصادی (آغاز باز شدن کاسبرگها) از یک گلخانه تجاری تهیه گردید. شاخههای گل به طول ۴۰ سانتیمتر بریده شده و تمامی برگهای آنها به جز دو برگ بالایی چیده شد. گلهای در داخل گلدانهای نیم لیتری حاوی ۴۰۰ میلی لیتر آب مقطر قرار گرفته و به یک محیط کتربل شده با دمای 20 ± 1 درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی 90 ± 5 درصد تحت نور ثابت فلورستن با شدت پنج میکرومول بر مترمربع بر ثانیه منتقل گردیدند. بدنبال آن تعداد شش شاخه گل برای هر ترکیب آزمایشی به صورت تصادفی انتخاب و جام گل با استفاده از یک افشاره با سوسپانسیون حاوی اسپورها مایوزنی شدند. به منظور بررسی آلوودگی‌های پنهان با منشاء گلخانه‌ای، همین تعداد شاخه گل برای هر ترکیب آزمایشی با آب مقطر سترون محلول پاشی شدند. میزان سوسپانسیون و یا آب مقطر مصرفی برای هر شاخه گل یک میلی لیتر بود (Bar-Tal *et al.* 2001). در این مرحله برای تامین شرایط مناسب برای ایجاد آلوودگی، گلهای به مدت ۲۴ ساعت در داخل کیسه‌های نایلونی قرار داده شدند. پس از این مدت کیسه‌ها برداشته شده و رطوبت نسبی محیط به 70 ± 5 درصد کاهش داده شد. اندازه‌گیری میزان بیماری به صورت روزانه در جدایههای مختلف انجام شد. جدایههای مورد استفاده در این آزمایش بر اساس قدرت بیماریزایی در چهار گروه با قدرت بیماریزایی بالا، متوسط، کم و خیلی کم طبقه‌بندی شدند. بدنبال آن تعداد پنج جدایه نماینده از جدایههای مورد استفاده با محدوده بیماریزایی کم تا زیاد انتخاب و در آزمایش دوم برای تعیین غلظت مناسب اسپور برای مایوزنی مصنوعی بکار برده شدند.

۱-۲- تعیین غلظت مناسب اسپور برای مایوزنی: این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح

بلوکهای کامل تصادفی با دو عامل نوع جدایه با پنج سطح و غلظت اسپور با سه سطح در سه تکرار (هر ترکیب آزمایشی شامل شش شاخه) در سال ۱۳۸۵ در مرکز تحقیقات کشاورزی صفوی آباد اجرا شد. سطوح عامل نوع جدایه شامل سه جدایه A_4 , A_6 و A_7 به ترتیب با قدرت بیماریزایی بالا، متوسط و کم از دزفول، جدایه A_4 با قدرت بیماریزایی متوسط از محلات و جدایه A_3 با قدرت بیماریزایی کم از لاهیجان بودند. همچنین سطوح عامل غلظت شامل سه سطح 10^2 , 10^4 و 10^6 اسپور در میلی لیتر بودند. بدنبال آن مطابق با شرایط آزمایش اول نسبت به کشت جدایه‌ها، تهیه سوسپانسیون و مایه‌زنی مصنوعی گلها اقدام شد. گلها مطابق با شرایط آزمایش اول به محیط کنترل شده منتقل و بدنبال آن نسبت به اندازه‌گیری شدت بیماری به صورت روزانه اقدام شد.

۲- بررسی نسبت‌های مختلف نیترات به آمونیوم و سطوح کلسیم بر حساسیت گل بریده رز به کپک خاکستری

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی با دو عامل نسبت‌های مختلف نیترات به آمونیوم و غلظت‌های متفاوت کلسیم در محلول غذایی با چهار تکرار در گلخانه هیدروپونیک مرکز تحقیقات کشاورزی صفوی آباد بر روی بوته‌های یکساله رز هلندی رقم Vendetta اجرا گردید. سطوح عامل نیترات به آمونیوم شامل سه سطح $75:25$ و $50:50$ و سطوح عامل کلسیم شامل دو سطح $1/6$ و $4/8$ میلی مولار بود. لازم به ذکر است غلظت نیتروژن در تمامی تیمارهای آزمایشی ثابت و برابر 10 میلی مولار بود. غلظت سایر عناصر غذایی برای فسفر، پتاسیم و منیزیم به ترتیب برابر با یک، $7/4$ و دو میلی-مولار و برای مس، بور، آهن، منگنز، روی و مولیبدن به ترتیب برابر با $0/32$, $0/46$, $0/90$, $0/14$ و $0/11$ میکرومولار بود (Hoagland & Arnon 1950). در کلیه محلولهای غذایی مورد استفاده pH روی $6/0 \pm 0/1$ تنظیم گردید. برای جلوگیری از تبدیل آمونیوم به نیترات، از بازدارنده نیتریفیکاسیون دی‌سیانودی‌آمید با غلظت یک میلی‌گرم در لیتر و برای جلوگیری از اسیدی شدن محلول غذایی در اثر جذب آمونیوم توسط ریشه از بافر بیولوژیکی 2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid با غلظت سه میلی‌مولار استفاده شد. به منظور اجرای این آزمایش در آبانماه ۱۳۸۵، تعداد ۱۴۴ بوته رز پس از هرس یکنواخت به گلدانهای ۱۲ لیتری حاوی پرلیت با دو اندازه $2-5/0$ و $5-2/0$ میلی‌متر با نسبت حجمی مساوی انتقال یافتند.

هر گلدان حاوی یک بوته بوده و برای هر ترکیب آزمایشی شش گلدان در نظر گرفته شد. گلدانهای حاوی گل در گلخانه با تراکم هشت گلدان در متر مربع بر روی سکو چیده شدند. سامانه هیدرопونیک مورد استفاده در این تحقیق از نوع باز بود که از طریق یک سامانه آبیاری قطره‌ای عملیات آبیاری و کوددهی به طور خودکار انجام می‌گرفت. عملیات داشت در طول دوره رشد انجام شد. بدنبال آن در طول دو دوره گلدهی (بهمن ۸۵ و فروردین ۸۶) گلهای در مرحله برداشت اقتصادی چیده شدند. در هر دوره گلهای برداشت شده (۱۲-۱۶ شاخه گل برای هر ترکیب آزمایشی) به آزمایشگاه منتقل، نیمی از گلهای (جام گل) در هر ترکیب آزمایشی مشابه شرایط دو آزمایش قبلی با سوسپانسیون حاوی جدایه A₆ با غلظت^۴ ۱۰ اسپور در میلی لیتر مایه‌زنی شده و نیم دیگر برای بررسی آلودگی‌های پنهان ناشی از گلخانه با آب مقطر سترون محلول پاشی شدند. بدنبال آن گلهای به محیط کنترل شده منتقل و نسبت به اندازه‌گیری شدت بیماری به صورت روزانه اقدام شد.

۳- ارزیابی شدت بیماری: بدین منظور ابتدا شدت بیماری (Disease severity) در شاخه‌های گل از طریق رتبه‌بندی و به صورت روزانه اندازه‌گیری شد. بدین منظور به گلهای بر اساس میزان آلودگی جام گل به صورت تخمینی اعداد یک تا ۹ داده شد. (Capdeville *et al.*, 2005) رتبه‌بندی در این روش به صورت: ۹=۱۰۰٪، ۸=۷۵-۱۰۰٪، ۷=۵۰-۷۵٪، ۶=۲۵-۵۰٪، ۵=۱۰-۱۵٪، ۴=۱۰-۱۵٪، ۳=۵-۱۰٪، ۲=۲-۵٪، ۱=۰-۲٪، ۰=۰٪ انجام گردید. اعداد ذکر شده بر حسب درصد عبارتند از سطح بیمار شده گلبرگ نسبت به سطح جام خارجی گل. بر مبنای نتایج حاصل از اندازه‌گیری شدت و با احتساب میانگین درصد آلودگی گلبرگ در هر رتبه، سطح زیر منحنی پیشرفت بیماری (Area Under Disease Progress Curve) AUDPC با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$AUDPC = \sum [(Y_i + Y_{i+1}) / 2 \times (t_{i+1} - t_i)]$$

در این رابطه Y_i : شدت بیماری در زمان t_i و Y_{i+1} : شدت بیماری در زمان t_{i+1} . برای هر گل و زمان بر حسب روز است (Shanner & Finney 1977).

۴- اندازه‌گیری غلظت نیتروژن و کلسیم گیاه: در اوایل دوره گلدهی از هر ترکیب آزمایشی شش شاخه گل برداشت گردید. شاخه‌های برداشت شده به قسمتهای مختلف گلبرگ، برگ و ساقه

تفکیک شدند. همچنین در این مرحله از ریشه نیز نمونه‌برداری شد. نمونه‌ها پس از شستشو با آب معمولی و آب مقطر در پاکت کاغذی قرار داده شده و سپس در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. بدنبال آن نمونه‌ها با استفاده از آسیاب برقی خرد شده و پس از عبور از الک ۰/۵٪ مش برای انجام آزمایشات مربوطه آماده شدند. غلظت نیتروژن موجود در نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اتوکجلدال و همچنین غلظت کلسیم آنها پس از تهیه عصاره از روش خاکسترگیری خشک با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شد (Emami 1996). نتایج حاصله به کمک نرم افزار SAS تجزیه و تحلیل شده و برای مقایسه و کلاسیفیکیونیک‌ها از آزمون LSD استفاده شد. همچنین روابط همبستگی با استفاده از نرم-افزار Excel محاسبه شدند.

نتیجه و بحث

قدرت بیماریزایی جدایه‌های مختلف *B. cinerea*

به استثنای جدایه A₂ که اولین علائم آلودگی توسط آن در روز دوم پس از مایه‌زنی در جام گلهای مشاهده گردید، علائم بیماری در سایر جدایه‌ها در فاصله زمانی یک روز بعد از مایه‌زنی به صورت لکه‌های بافت مرده (نکروزه) در گلبرگ ظاهر شد. روند آلودگی در گلهای مایه‌زنی شده با جدایه A₂ با گذشت زمان افزایش یافت و درصد آلودگی در تکرارهای مختلف این تیمار در روز چهارم بعد از مایه‌زنی به ۱۰۰ درصد رسید. این در حالی بود که در مورد بقیه جدایه‌ها این میزان در روز اول برابر ۱۰۰ درصد بود. توسعه کپک خاکستری در گلبرگهای رز شامل دو مرحله است. در ابتدا، آلودگی به صورت کلوئی‌های خیلی محدود بروز کرده که بدنبال آن رشد متوقف می‌شود. این مرحله به صورت ماکروسکوپی قابل رویت نیست. مرحله دوم در صورت مساعد بودن شرایط محیطی و میزان حساس ادامه می‌یابد. نشانه‌های بیماری در این مرحله به صورت زخم‌های کوچک قابل رویت است که به سرعت گسترش یافته و تمامی سطح گلبرگ را می‌پوشانند. ایجاد زخم‌های قابل رویت ناشی از قارچ کپک خاکستری در طول ۲۴ ساعت اول در گل رز در صورت مناسب بودن شرایط محیطی در تحقیقات پیشین نیز گزارش شده است (Elad 1989).

جدایه‌های مورد استفاده براساس ارزیابی شاخص AUDPC دارای قدرت بیماریزایی

متفاوتی بودند (جدول ۱) به طوری که قدرت بیماریزایی در سطح آماری یک درصد تحت تاثیر نوع جدایه قرار گرفت. بنابراین جدایه‌ها بر مبنای این شاخص در چهار گروه با قدرت بیماریزایی بالا، متوسط، کم و خیلی کم دسته‌بندی شدند که متوسط این شاخص برای هر گروه به ترتیب $42/6$ ، $42/1$ ، $27/1$ و $13/0$ درصد/روز بود. بر مبنای این شاخص، قدرت بیماریزایی جدایه‌های گروه اول تقریباً $1/6$ برابر جدایه‌ها با قدرت بیماریزایی متوسط و سه برابر جدایه‌ها با توانایی بیماریزایی ضعیف بود. قدرت بیماریزایی جدایه‌های مورد استفاده همبستگی منفی و معنی دار با تعداد روز لازم برای بافت مردگی 100 درصدی سطح خارجی جام گل توسط آنها داشت (شکل ۱). به طوری که با افزایش قدرت بیماریزایی جدایه، تعداد روزهای لازم برای بافت مردگی 100 درصدی سطح خارجی جام گل کاهش و بالعکس با کاهش قدرت بیماریزای این مدت افزایش یافت (جدول ۱). تفاوت در قدرت بیماریزایی جدایه‌های مختلف نوعاً یک خصوصیت ذاتی (Intrinsic property) بوده که در عمل به خصوصیات متفاوت آنها از قبیل میزان رشد میسلیوم، میزان اسپور تولیدی، مقدار آنزیم پلی گالاكتوروناز تولیدی و دیگر خصوصیات بیولوژیکی و بیوشیمیایی آنها بستگی دارد (Elad 1997). تفاوت در قدرت بیماریزایی جدایه‌های مختلف *B. cinerea* در تحقیقات قبلی نیز تایید شده است (Chardonnet et al. 2000).

غلظت مناسب اسپور برای ایجاد آلوگدگی

نتایج حاصل از آنالیز واریانس مساحت زیر منحنی پیشرفت بیماری نشان داد جدایه‌های مختلف بیماریزایی متفاوتی داشتند (جدول ۲). به طوری که جدایه‌های A_8 و A_6 به ترتیب دارای بیشترین و کمترین قدرت بیماریزایی بودند. ترتیب قرار گرفتن جدایه‌ها از نظر قدرت بیماریزایی در آزمایش دوم نیز شبیه آزمایش اول بود که این امر نشان دهنده همپوشانی نتایج دو آزمایش است (جداوی ۱ و ۲). در این آزمایش میزان بیماری بصورت معنی داری تحت تاثیر غلظت اسپور قرار گرفت. به طوری که با افزایش غلظت اسپور بکاررفته شدت بیماری در گلبرگ گلهای رز افزایش یافت که این امر با تحقیقات انجام شده مطابقت داشت (Elad 1989). بیشترین میزان بیماری در غلظت 10^6 اسپور در میلی لیتر حاصل شد و غلظتهاي 10^4 و 10^2 به ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند. نکته مهم توانایی بیماریزایی جدایه‌های مختلف *B. cinerea* در غلظت پائین (10^2 اسپور در میلی لیتر) بود که این نتیجه با یافته‌های تحقیقات قبلی مطابقت

۸۲ کیانی و همکاران: تاثیر کاربرد قبل از برداشت نسبت‌های مختلف نیترات به آمونیوم...

داشت (Elad 1989). البته این پدیده بخلاف عکس العمل سایر میزانهای *B. cinerea* (Jarvis 1980) و حتی در ساقه‌ها و برگهای همین میزان می‌باشد (Elad 1989).

جدول ۱- قدرت بیماریزایی نسبی جدایه‌های مختلف *Botrytis cinerea* عامل بیماری کپک خاکستری رز

Table 1. Relative virulence of various isolates of *Botrytis cinerea*, the causal agent of rose gray mold

جدایه (Isolate No.)	منطقه جغرافیایی (Geographic location)	مساحت زیر منحني پیشرفت بیماری (AUDPC rate) (% day ⁻¹)	تعداد روز مورد نیاز برای بافت مردگی ۱۰۰ درصد گلبرگ (Days required for 100% petal necrosis)	قدرت بیماریزایی (Virulence)
A ₁₀	Dezful	47.5	A*	5.7 D
A ₈	Dezful	39.4	B	6.7 CD
A ₉	Dezful	41.1	B	7.7 BCD
A ₁₁	Dezful	28.9	C	8.0 BCD
A ₄	Mahallat	23.6	C	8.0 BCD
A ₅	Mahallat	29.0	C	8.7 BCD
A ₇	Dezful	27.1	C	8.0 BCD
A ₁₂	Dezful	16.8	D	9.7 ABC
A ₃	Lahijan	11.8	DE	10.7 AB
A ₆	Dezful	10.6	E	10.7 AB
A ₂	Lahijan	3.0	F	12.7 A

Analysis of variance

Source of variability Isolate No.	F Probability **
--------------------------------------	---------------------

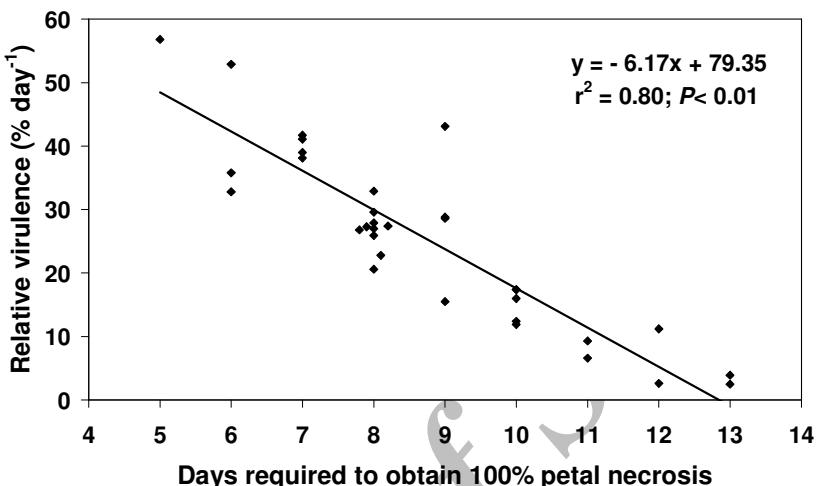
*میانگینها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند.
(آزمون LSD).

*Means in each column carrying the same letter are not statistically different at $\alpha=0.05$ (LSD Test).

** Signi

بر اساس نتایج این آزمایش میزان بیماری کپک خاکستری گل رز نه تنها متاثر از نوع جدایه و غلاظت اسپور بود بلکه به طور معنی‌داری ($P < 0.01$) تحت تاثیر برهمکنش ایندو قرار داشت

(جدول ۲). معنی دار شدن برهمکنش نوع جدایه و غلظت اسپور حاکی از آنست که در بعضی از



شکل ۱- همبستگی بین قدرت بیماریابی جدایه‌های مختلف *Botrytis cinerea* و مدت زمان لازم برای بافت مردگی ۱۰۰ درصدی گلبرگ در گل رز

Fig. 1. Correlation between days required for obtaining 100% petal necrosis and relative virulence using different isolates of *Botrytis cinerea* on rose flower

جدایه‌های مورد آزمایش افزایش غلظت اسپور مورد استفاده لزوماً منجر به افزایش معنی دار شدت بیماری نشده است. این امر بین غلظتهای 10^2 و 10^4 اسپور در میلی لیتر جدایه A_3 و به خصوص بین غلظتهای 10^2 ، 10^4 و 10^6 اسپور در میلی لیتر جدایه A_6 به طور واضح دیده می‌شود (جدول ۳). نکته قابل توجه توان بیماریابی فوق العاده ضعیف جدایه A_6 حتی در غلظت 10^1 اسپور در میلی لیتر بود که در مقایسه با سایر جدایه‌ها قدرت بیماریابی کمتری داشت. وجود چنین تفاوت‌هایی بین جدایه‌های مختلف *B. cinerea* امری طبیعی بوده که از خصوصیات ذاتی متفاوت آنها ناشی می‌گردد (Chardonnet *et al.*, 2000). از آنجایی که آزمایشات در شرایط آب و هوایی دزفول انجام شد بنابراین جدایه‌های A_3 و A_4 با تأکید بر استفاده از جدایه بومی منطقه و جدایه A_6 به دلیل داشتن قدرت بیماریابی ضعیف از آزمایشات بعدی حذف شدند. بنابراین از میان دو جدایه A_7 و A_8 جدایه A_7 انتخاب شد. همچنین با توجه به شدت بیماری بالا در غلظت 10^9 اسپور در میلی لیتر و

۸۴ کیانی و همکاران: تاثیر کاربرد قبل از برداشت نسبت‌های مختلف نیترات به آمونیوم...

بالعکس توانایی بیماریزایی ضعیف در غلظت 10^2 اسپور در میلی‌لیتر تصمیم بر این شد که از غلظت 10^4 اسپور در میلی‌لیتر استفاده شود. این امر در تحقیقات انجام شده توسط سایر محققین در گل رز نیز رعایت شده است (Volpin & Elad 1991; Bar-Tal *et al.* 2001; Capdeville *et al.* 2005).

جدول ۲- تاثیر نوع جدایه و غلظت اسپور بر شدت بیماری کپک خاکستری گل رز براساس مساحت زیر منحنی پیشرفت بیماری

Table 2. Effect of isolate and inoculum concentration on disease severity of rose gray mold as expressed by area under disease progress curve (AUDPC)

Isolate No.	جدايه	مساحت زیر منحنی پیشرفت	
		بیماری	AUDPC rate ($\% \text{ day}^{-1}$)
A ₈			27.9 A*
A ₄			28.2 A
A ₇			26.8 AB
A ₃			21.3 B
A ₆			3.5 C

غلظت اسپور (اسپور در میلی‌لیتر)		Spore concentration (spore m^{-1})	AUDPC rate ($\% \text{ day}^{-1}$)
Isolate No.	Spore concentration (spore m^{-1})		
A ₈	10^2		5.9 C
A ₄	10^4		17.3 B
A ₇	10^6		41.4 A

Analysis of variance		
Source of variability	F	Probability
Isolate No.		**
Spore concentration		**
Isolate No. × Spore concentration		**

* میانگین‌ها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند.
آزمون (LSD).

** Means in each column carrying the same letter are not statistically different at $\alpha = 0.05$ (LSD Test).

*** Signi

جدول ۳- برهمکنش نوع جدایه و غلظت اسپور بر شدت بیماری کپک خاکستری گل رز براساس مساحت زیر منحنی پیشرفت بیماری

Table 3. Interaction effects of isolate and inoculum concentration on disease severity of rose gray mold as expressed by area under disease progress curve (AUDPC)

Isolate No.	جدايه	غلظت اسپور (اسپور در میلی لیتر)		
		Spore concentration (spore m^{-1})		
		10^2	10^4	10^6
	مساحت زیر منحنی پیشرفت بیماری			
	AUDPC rate ($\% day^{-1}$)			
A ₈	10.0 E*	26.5 C	47.3 B	
A ₄	5.3 FGH	27.0 C	52.2 A	
A ₇	5.1 FGH	22.9 D	52.4 A	
A ₃	6.0 FG	7.7 EF	50.4 AB	
A ₆	3.1 GH	2.5 H	4.7 FGH	

*میانگین ها با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی دار در سطح پنج درصد می باشند (آزمون LSD).

*Mean carrying the same letter are not statistically different at $P \leq 0.05$ (LSD Test).

غلظت نیتروژن و کلسیم گل رز

افزایش غلظت آمونیوم در محلول غذایی منجر به افزایش معنی دار نیتروژن کل ساقه و برگ شد (جدول ۴). این مسئله به دلیل جذب و ساخت سریع یونهای آمونیوم در مقایسه با نیترات به دلیل مصرف کمتر انرژی توسط گیاه است که در تحقیقات قبلی اثبات شده است (Lorenzo *et al.* 2000; Rothstein & Cregg 2005). با این وجود غلظت نیتروژن در گلبرگ و ریشه تحت تاثیر نسبت نیترات به آمونیوم قرار نگرفت. با کاربرد آمونیوم غلظت کلسیم در ریشه، برگ و گلبرگ دچار کاهش معنی دار شد (جدول ۴). کاهش غلظت کلسیم در ریشه نشان دهنده آنست که برهمکنش بین آمونیوم و کلسیم در محل جذب آنها یعنی ریشه متظاهر شده که بدنبال آن سایر قسمت های گیاه هم از این مسئله متأثر گشته است. اثر بازدارندگی آمونیوم بر جذب کلسیم در مقایسه با نیترات توسط محققین متعددی به اثبات رسیده است (Woodson & Boodley 1982; Nielsen & Starkey 1999; Rothstein & Cregg 2005)

با افزایش میزان کلسیم در محلول غذایی، غلظت این عنصر در ریشه، برگ و گلبرگ افزایش یافت.

این امر نیز با تحقیقات قبلی سایر محققین در گل رز (Starkey & Pedersen 1997; Nielsen & Starkey 2001 Mortensen *et al.* 1999) مطابقت داشت. معذک به استثنای برگ، این افزایش فقط در نسبت‌های ۱۰۰:۷۵ و ۷۵:۲۵ نیترات به آمونیوم رخ داد و در نسبت ۵۰:۵۰ نیترات به آمونیوم، افزایش غلظت کلسیم در محلول غذایی تاثیری بر غلظت کلسیم در قسمت‌های ریشه و گلبرگ نداشت (شکل ۲). به طوری که غلظت کلسیم ریشه و گلبرگ بصورت معنی‌داری ($P < 0.01$) تحت تاثیر برهمکنش نسبت‌های نیترات به آمونیوم و سطوح کلسیم قرار گرفت. بر اساس تحقیقات انجام شده افزایش غلظت کلسیم در محلول غذایی تنها در صورتی منجر به افزایش غلظت این عنصر در غنچه‌ها و گلهای رز گلدانی می‌شود که غلظت آمونیوم در محلول غذایی کمتر از ۳/۵ میلی‌مolar باشد (Nielsen & Starkey 1999). این امر نشان‌دهنده همبستگی منفی بین غلظت آمونیوم و کلسیم در قسمت‌های مختلف گل رز است.

جدول ۴- تاثیر نسبت‌های مختلف نیترات به آمونیوم و سطوح متفاوت کلسیم در محلول غذایی بر غلظت نیتروژن و کلسیم در قسمت‌های مختلف گل رز

Table 4. Nitrogen and calcium concentrations in the different parts of rose flower as affected by different nitrate to ammonium ratios and calcium levels in nutrient solution

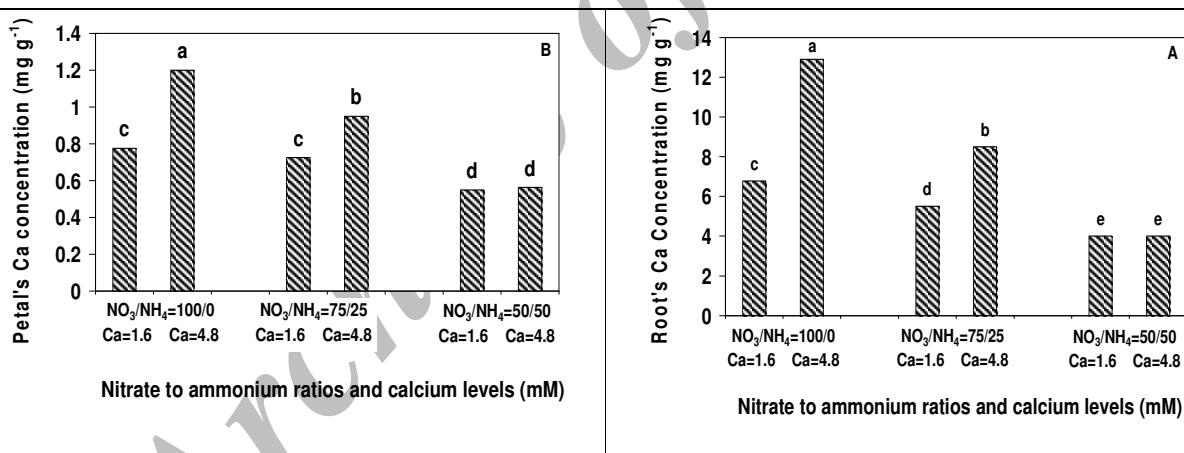
نسبت نیترات به آمونیوم Nitrate to ammonium ratio	نیتروژن Nitrogen				کلسیم Calcium (mg g ⁻¹)			
	root	stem	leaf	petal	root	stem	leaf	petal
100/0	23.5 A*	16.2 B	35.7 B	18.8 A	9.8 A	5.4 A	8.5 A	0.99 A
75/25	25.5 A	17.3 B	37.9 A	19.3 A	7.0 B	4.8 A	7.6 B	0.84 B
50/50	24.9 A	18.4 A	38.5 A	19.9 A	4.0 C	4.7 A	5.9 C	0.55 C
غلظت کلسیم (میلی‌مolar) Calcium concentration (mM)								
1.6	24.7 A	16.9 A	37.5 A	19.7 A	5.4 B	4.8 A	6.5 B	0.68 B
4.8	24.5 A	17.6 A	37.3 A	19.0 A	8.5 A	5.1 A	8.1 A	0.90 A
Analysis of variance								
Source of variability								
Nitrate to ammonium ratio	n.s.	**	**	n.s.	**	n.s.	**	**
Calcium	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	**	**
Nitrate to ammonium ratio × Calcium	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.	**

*میانگینها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند.
(LSD آزمون)

*Means in each column carrying the same letter are not statistically different at $P \leq 0.05$ (LSD Test).

شدت بیماری کپک خاکستری گل رز

نتایج حاصل از آنالیز واریانس مرکب دو تاریخ اجرای آزمایش نشان داد افزایش غلظت آمونیوم در محلول غذایی منجر به افزایش معنی دار شدت بیماری کپک خاکستری گل رز شد. در این میان نسبت ۱۰۰:۰۰ نیترات به آمونیوم (سطح صفر آمونیوم) منجر به کمترین بیماری گردید اما با افزایش آمونیوم به میزان ۲۵ و ۵۰ درصد نیتروژن مصرفی بیماری به طور معنی داری افزایش یافت (جدول ۵). از آنجایی که در این تحقیق به منظور حذف تاثیر آمونیوم بر کاهش pH محیط ریشه در نتیجه جذب آن، از بافر بیولوژیکی MES استفاده شده بود، بنابراین تاثیر آمونیوم بر افزایش میزان بیماری کپک خاکستری را می توان به اثر بازدارندگی آمونیوم بر جذب کلسیم توسط ریشه نسبت داد. تایید این امر، غلظت کلسیم موجود در ریشه، برگ و گلبرگ است که با افزایش میزان آمونیوم در محلول غذایی به طور معنی داری کاهش یافته اند (جدول ۴).



شکل ۲- برهمکنش نسبت های مختلف نیترات به آمونیوم و سطوح متفاوت کلسیم بر غلظت کلسیم ریشه (A) و گلبرگ (B) گل رز.

Fig. 2. Interaction effects of different nitrate to ammonium ratios and calcium levels on Ca concentration of root (A) and Petal (B) of rose flower.

۸۸ کیانی و همکاران: تاثیر کاربرد قبل از برداشت نسبت‌های مختلف نیترات به آمونیوم...

جدول ۵- تاثیر نسبت‌های مختلف نیترات به آمونیوم و سطوح کلسیم بر حساسیت گل رز به بیماری کپک خاکستری براساس مساحت زیر منحنی پیشرفت بیماری (میانگین دو تاریخ برداشت)

Table 5. Effect of different nitrate to ammonium ratios and calcium levels on disease severity of rose gray mold as expressed by area under disease progress curve (AUDPC) (means of two sampling dates).

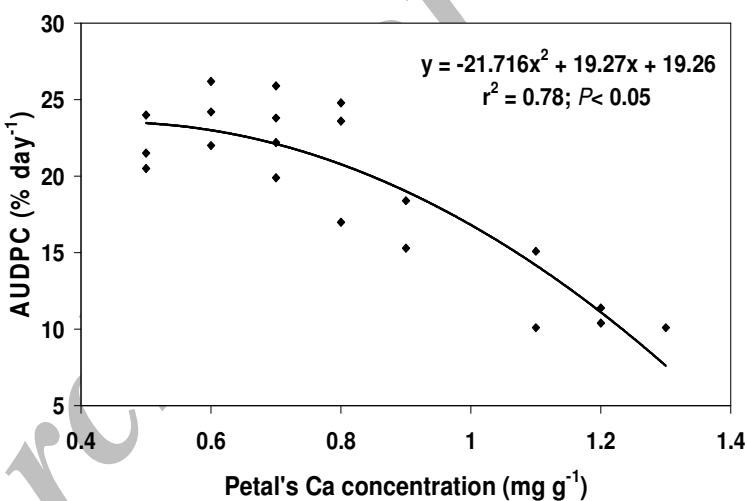
Nitrate to ammonium ratio	نسبت نیترات به آمونیوم	مساحت زیر منحنی پیشرفت بیماری AUDPC rate (% day ⁻¹)
100/0		21.4 C
75/25		25.4 B
50/50		31.6 A
غلاظت کلسیم (میلی مولار)		
Calcium concentration (mM)		
1.6		29.1 A
4.8		23.2 B
Analysis of variance		
Source of variability		F Probability
Nitrate to ammonium ratio		**
Calcium		**
Date		n.s.
Nitrate to ammonium ratio × Calcium		**
Nitrate to ammonium ratio × Calcium × Date		n.s.

*میانگینها با حروف مشابه در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند.
(آزمون LSD).

*Means in each column carrying the same letter are not statistically different at $p = 0.05$ (LSD Test).

فرایند آلودگی توسط *B. cinerea* به چهار مرحله تقسیم می‌گردد. جوانه زنی اسپور در سطح گلبرگ، رشد قبل از نفوذ، نفوذ به داخل بافت میزان و رشد بعد از نفوذ (Elad 1997). کمبود کلسیم ناشی از تغذیه آمونیومی منجر به ایجاد اختلال در اعمال سلولی کلسیم (Marschner 1995) به خصوص در گلبرگها شده و با تاثیر بر این چهار مرحله منجر به افزایش شدت بیماری کپک خاکستری در روز می‌گردد. در چنین شرایطی نشت مواد غذایی از سلول به

فضای آپولاستی و سطح گلبرگ (Simon, 1978) منجر به القای جوانهزنی اسپور شده و ترکیبات آلی بیشتری را برای رشد قبل از نفوذ در اختیار بیمارگر قرار می‌دهد (Volpin & Elad, 1995). از طرف دیگر کاهش استحکام دیواره سلولی و تخرب آن توسط آنزیمهای پکتولیتیک (Liptay & Dierendock, 1987; Hammer & Evensen, 1994) تولید شده توسط *B. cinerea* زمینه را برای نفوذ هرچه بیشتر این بیمارگر به داخل بافت گلبرگ فراهم می‌کند که مجموعه این شرایط منجر به توسعه بیماری در صورت مناسب بودن شرایط محیطی می‌گردد. وجود همبستگی معنی و معنی دار ($r^2=0.78$) بین غلظت کلسیم گلبرگ و شدت بیماری نشان‌دهنده تاثیر مثبت کلسیم بر کاهش بیماری کپک خاکستری گل رز است (شکل ۳). این امر نتایج تحقیقات انجام شده مبنی بر تاثیر کلسیم بر توسعه مکانیزم‌های مقاومت به این بیماری را تایید می‌کند (Volpin & Elad 1991; Elad & Volpin 1993).



شکل ۳- همبستگی بین غلظت کلسیم گلبرگ و حساسیت گل رز به بیماری کپک خاکستری ناشی از *Botrytis cinerea*.

Fig. 3. Correlation between Ca concentration in petals and susceptibility of rose flowers to gray mold disease caused by *Botrytis cinerea*.

در این تحقیق افزایش میزان کلسیم در محلول غذایی از $1/6$ به $4/8$ میلی‌مولار منجر به کاهش معنی‌دار بیماری کپک خاکستری گل رز گردید (جدول ۵). اما این کاهش فقط در نسبت‌های $100:00$ و $75:25$ نیترات به آمونیوم دیده شد (جدول ۶). به مفهوم دیگر میزان بیماری در نسبت $50:50$ نیترات به آمونیوم محلول غذایی تحت تاثیر کلسیم قرار نگرفت که این مسئله به دلیل کاهش جذب کلسیم در صورت افزایش آمونیوم به میزان 50 درصد کل نیتروژن مصرفی است. این نکته موید آنست که افزایش غلظت کلسیم در محلول غذایی همیشه به معنای جذب و ساخت مقادیر بالای این عنصر و تاثیر آن بر کاهش بیماری نبوده و عناصر غذایی موثر بر جذب این عنصر دارای اهمیت فراوانی هستند. به طوری که در نسبت $50:50$ نیترات به آمونیوم محلول غذایی غلظت کلسیم گلبرگ به $55/0$ میلی‌گرم در گرم ماده خشک گیاهی کاهش یافت که این مقدار کمتر از حد بحرانی کلسیم مورد نیاز گلبرگ ($70/0$ میلی‌گرم در گرم) برای ایغای وظایف سلولی آنست (De Kreij *et al.*, 1992). تاثیر کلسیم بر کاهش خسارت بیماری کپک خاکستری در رز در تحقیقات Starkey & Pedersen, 1997; Bar-Tal *et al.*, 2001; Capdeville *et al.*, 2005) پیشین نیز به اثبات رسیده است (). عدم تاثیرپذیری غلظت نیتروژن گلبرگ از نسبت‌های مختلف نیترات به آمونیوم و کلسیم مصرفی، نشان می‌دهد که پاسخ گلبرگ در واکنش به آلودگی توسط *B. cinerea* فقط متاثر از غلظت کلسیم بافتی بوده و غلظت نیتروژن گلبرگ بر این پاسخ تاثیر نداشته است. وجود همبستگی منفی بین غلظت کلسیم گلبرگ و شدت بیماری از یک طرف و نبود رابطه مشابه بین غلظت نیتروژن گلبرگ و یا حتی برگ با میزان بیماری (تایج ارائه نشده است) به خوبی این پاسخ را توجیه می‌کند. پژوهش حاضر نتایج تحقیقات قبلی مبنی بر بهبود مقاومت پس از برداشت گلهای بریده رز نسبت به بیماری کپک خاکستری را در اثر کاربرد غلظت مناسب کلسیم تایید می‌کند (Volpin & Elad, 1991; Elad & Volpin, 1993; Starkey & Pedersen, 1997; Bar-Tal *et al.*, 2001; Capdeville *et al.*, 2005).

بر مبنای نتایج این تحقیق کاهش غلظت آمونیوم و افزایش غلظت کلسیم در محلول غذایی به عنوان یکی از استراتژیهای کاربردی برای کاهش خسارت بیماری کپک خاکستری در رز مطرح می‌باشد. از این دیدگاه استفاده از نسبت بالای نیترات به آمونیوم ($100:00$) و افزایش میزان کلسیم محلول غذایی به $4/8$ میلی‌مولار برای تولید گل رز در شرایط هیدروپونیک

توصیه می‌گردد. براساس نتایج این پژوهش اگرچه کاربرد متعادل عناصر غذایی منجر به کاهش حساسیت گلهای رز به بیماری کپک خاکستری شد اما مهارت در کاربرد عناصر غذایی به عنوان یک استراتژی کاربردی برای کاهش خسارت بیماری می‌باشد و روشها

جدول ۶- برهمکنش نسبت‌های مختلف نیترات به آمونیوم و سطوح کلسیم بر حساسیت گل رز به بیماری کپک خاکستری براساس مساحت زیر منحنی پیشرفت بیماری (میانگین دو تاریخ برداشت)

Table 6. Interaction effects of different nitrate to ammonium ratios and calcium levels on susceptibility of rose flower to gray mold as expressed by area under disease progress curve (means of two sampling dates)

		غلهای کلسیم (میلی مولار)	
		Calcium concentration (mM)	
		1.6	4.8
نسبت نیترات به آمونیوم		مساحت زیر منحنی پیشرفت	
Nitrate to ammonium ratio		بیماری	
		AUDPC rate ($\% \text{ day}^{-1}$)	
100/0	27.4 C*	15.4 E	
75/25	28.0 BC	22.7 D	
50/50	31.9 A	31.3 AB	

*میانگین‌ها با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد می‌باشند (آزمون LSD).

*Means carrying the same letter are not statistically different at $P \leq 0.05$ (LSD Test).

برای کنترل بیماری بکار برده شود. از اینرو توجه به راهکارهایی همچون مدیریت تلفیقی بیماریهای گیاهی و تغذیه بهینه برای کنترل بیماری اجتناب ناپذیر می‌باشد. کنترل شرایط محیطی نظیر میزان تابش، تهویه، رطوبت نسبی و درجه حرارت، بهبود تعادل تغذیه‌ای در کنار استفاده از سوم شیمیایی موثر و کم خطر و توجه به بهداشت گلخانه اصول اساسی در کنترل مطلوب این بیماری هستند که می‌باشند به آنها پرداخته شود.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (17-20) متن انگلیسی مراجعه شود.

نشانی نگارندگان: شهرام کیانی، عزیزاله علیزاده و محمد جعفر ملکوتی، دانشگاه تربیت

۹۲ کیانی و همکاران: تاثیر کاربرد قبل از برداشت نسبت‌های مختلف نیترات به آمونیوم...

مدرس، دانشکده کشاورزی، صندوق پستی ۱۴۱۱۵-۱۱۱، غفور زاده‌داغ،

مرکز تحقیقات کشاورزی صنعتی آباد، سید جلال طباطبایی، گروه باغبانی

دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز

Archive of SID