ژنتیک نوین
دوره بیستم، شماره۳، پاییز ۱٤۰٤
صفحه ۲۳٤ - ۲۲۱

اثر تیمار سیلیس پتاسیم و اکسی کلرور مس بر صفات موفولوژیکی و بیان ژن‌های دفاعی بادام آلوده به بیمارگر شانکر باکتریای (*Psedomonas syringae* pv. *syringae*)

Effect of potassium silica and copper oxychloride treatment on bacterial canker disease (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*) and fruit morphological traits in almond orchards in Chaharmahal and Bakhtiari province

محمدرضا ارژنگ[۱]، جلال غلام‌نژاد*[۲]، حیدر مفتاحی‌زاده[۲]، اعظم جعفری[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران

۲- دانشیاران گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران

Arzhang M[1], Gholamnezhad J*[2], Meftahizadeh H[2], Jafari A[2]

1- Master's Student in Horticultural Science and Engineering, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Ardakan University, Ardakan, Iran
2- Associate Professor, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Ardakan University, Ardakan, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: jgholamnezhad@ardakan.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱٤۰٤/۰۳/۱۰ - تاریخ پذیرش: ۱٤۰۵/۰۲/۲۹)

چکیده

بادام (Prunus dulcis) یکی از درختان میوه هسته‌دار در مقیاس تجاری در ایران و به ویژه استان چهار محال و بختیاری است. بیماری شانکر باکتریایی با عامل بیمارگر *Psedomonas syringae pv.syringae* یکی از بیماری‌های مهم در سطح باغات بادام استان است؛ برای کنترل بیماری شانکر باکتریایی از ترکیبات مسی مانند اکسی کلرور مس استفاده می‌شود که این ترکیبات در غلظت بالا خاصیت گیاه‌سوزی و خطرات زیست محیطی به همراه دارد؛ برای این منظور استفاده از ترکیبات جایگزین مانند سیلیس پتاسیم، که باعث تحریک سیستم دفاع گیاهی در برابر عامل بیماری شانکر باکتریایی می‌شود. در آزمایشگاه اثر سیلیس پتاسیم و اکسی کلرور مس به‌صورت جداگانه در هر پتری‌دیش بر رشد باکتری بیمارگر بررسی شد. غلظت‌های مورد استفاده هر دو ترکیب ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود. بعد از گذشت ٤۸ ساعت از ریختن تیمارها در چاهک‌ها، هالهٔ بازدارندهٔ رشد اطراف چاهک اندازه‌گیری شد، و در نهایت درصد کنترل‌کنندگی هر غلظت تیمار در مقایسه با تیمار شاهد محاسبه شد. نتایج نشان داد بهترین کنترل‌کنندگی در بین غلظت‌های تیمار سیلیس پتاسیم مربوط به غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم با درصد کنترل‌کنندگی ۵۸/٦٤ بود، که البته در مقایسه با سه غلظت اکسی کلرور مس (۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) از نظر آماری در سطح پایین‌تری قرار داشت، درصد کنترل کنندگی غلظت‌های مختلف اکسی کلرور مس به‌ترتیب ٦٦/٤۲، ۷٤/۳۲ و ۷۸/۲۲ درصد بود. در کاهش لکه برگی در شرایط گلخانه، سیلیس پتاسیم با غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با درصد کاهش لکه برگی ٦۵/۱۲ درصد بود. در اندازه‌گیری مشخصات فیزیکی میوه بهترین عملکرد مربوط به تیمار سیلیس پتاسیم ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود، که تفاوت معناداری با اکسی کلرور مس از خود نشان داد؛ بیشترین بیان این ژن فنیل‌آلانین آمونیالیاز در تیمار اکسی کلرور مس (۸/۳ برابر شاهد در روز بیستم) مشاهده شد. با این حال، تیمار سیلیس پتاسیم ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیز بیان این ژن را به‌طور معنی‌داری تا ۲/٦ برابر شاهد افزایش داد و از نظر آماری در سطح بالاتری نسبت به اکسی کلرور مس ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر قرار گرفت. در مورد ژن پراکسیداز تیمار سیلیس پتاسیم در روز بیستم نمونه‌برداری، بیان ژن پراکسیداز را به میزان ۱۵/۵ برابر شاهد افزایش داد که این میزان با تیمار اکسی کلرور مس برابری می‌کرد. این نتیجه نشان‌دهنده توانایی قابل‌توجه سیلیس پتاسیم در القای سیستم دفاعی آنزیمی گیاه است. نتایج این پژوهش نشان داد، از ترکیبات غذایی مانند سیلیس‌پتاسیم، که خاصیت ضد باکتری دارند و در کیفیت و کمیت محصول و درخت نقش دارند، در مقایسه با اکسی کلرور مس، که در غلظت بالا خاصیت گیاه‌سوزی، از بین رفتن میکروارگانیسم‌های خاک و خطرات زیست‌محیطی به‌همراه دارد را می‌توان استفاده نمود و جایگزین ترکیبات مسی نظیر اکسی کلرور مس و بردوفیکس کرد.

واژه‌های کلیدی

بادام
سیلیس پتاسیم
شانکر باکتریایی
Pseudomonas syringae

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

مقدمه

بادام (*Prunus dulcis*) یکی از درختان مناطق معتدله است و متعلق به تیره *Rosaceae* بوده و جزء پرمصرف‌ترین آجیل‌های درختی در سراسر جهان است که کشور ایالات متحده بزرگ‌ترین تولید کننده بادام در جهان است (Tomishima et al. 2022). بادام از قدیمی‌ترین محصولات خشکباری دنیا به شمار می‌رود، که طبق آمار نامه فائو در سال ۲۰۲۰ کشور ایران با تولید ۱٦٤۳٤۸ تن بادام، حدود چهار درصد تولید جهانی را دارا است و چهارمین تولیدکننده بزرگ بادام را در بین تولیدکننده‌های بادام در جهان دارد، ایران با دارا بودن شرایط اقلیمی و انواع گونه‌های مهم وحشی و اهلی بادام، کشور مناسبی برای پرورش و تولید بادام است (Sarmili et al. 2023).

شانکر باکتریایی یکی از بیماری‌های مهم درختان میوه هسته‌دار است (Bophela et al. 2020). گونه‌های این باکتری روی درختان میوه هسته‌دار، مرکبات، گلابی، رز، بسیاری از گیاهان زینتی یک یا چند ساله، برخی از سبزی‌ها و غلات ایجاد آلودگی می‌کند (Eteeti and Eteeti 2020). از علایم این بیماری بروز زخم و ترشح صمغ است، که باعث زوال درخت شده، به تدریج با پیشرفت بیماری نهایتاً منجر به خشک شدن درختان می‌شود (Cao et al. 2024)؛ همچنین در برخی باغ‌ها، در ابتدای فصل رشد، جوانه‌ها پس از باز شدن خشک می‌شوند و مقداری صمغ در محل آن‌ها ترشح می‌شود. این بیماری باعث کاهش محصول، ضعف و نهایتاً خشک شدن درختان آلوده می‌شود (Lamichhane 2014). در ایران شانکر باکتریایی همه ساله خسارات زیادی به درختان میوه هسته‌دار وارد می‌کند (Eteeti and Eteeti 2020). باکتری *Pseudomonas syringae* بیمارگر مخربی است، که به بیش از ۱۸۰ گونه گیاهی مختلف حمله می‌کند(Martínsanz et al. 2013). این بیماری باعث کاهش کمی و کیفی محصول و کاهش عمر درخت می‌شود. خسارات این بیماری در درختان هسته‌دار دارای اهمیت اقتصادی است (Giovanardi et al 2018). بر اثر بیماری شانکر باکتریایی، تغییر رنگ و تیره شدن در قسمت تنه درختان و ایجاد شانکر(صمغ) دیده می‌شود، البته ریشه‌ها سالم می‌مانند و بر اثر این بیماری تولید پاجوش‌های فراوان نسبت به درختان غیرآلوده می‌شود (Agrios 2005). باکتری *P. syringae* pv. *syringae* میله‌ای شکل با تاژک قطبی، گرم منفی و هوازی است (Shila et al. 2013). درحضور آرژنین می‌تواند به‌صورت بی‌هوازی رشد کند (Tribelli et al. 2019). این نوع باکتری در هنگام رنگ‌آمیزی گرم در زیر میکروسکوپ به رنگ قرمز دیده می‌شود (Zlatković et al. 2022). اقدامات شیمیایی مانند مبارزه شیمیایی با استفاده از ترکیبات مسی می‌تواند مشکلات گیاه‌سوزی را به همراه داشته باشد؛ همچنین این ترکیبات، پایدار بوده و در چرخه‌های اکولوژیک خاک وارد می‌شوند. مصرف این ترکیبات باعث تجمع مس در خاک و منابع آبی می‌شود. از آن‌جایی که مس و ترکیبات مسی خاصیت باکتری‌کشی دارند، اثرات بسیار مخربی بر میکروارگانیسم‌های خاک گذاشته و بدین ترتیب از فرآیند تجزیه مواد آلی در خاک جلوگیری می‌کند (Lamichhane et al. 2018).

نگرانی‌های زیست‌محیطی و احتمال بروز مقاومت در عوامل بیماری‌زا را به‌همراه دارد. از این رو، حرکت به سمت راهکارهای مدیریتی پایدار و کم‌خطرتر، از جمله استفاده از القاگرهای مقاومت و همچنین ترکیبات مغذی مانند سیلیس پتاسیم، ضروری به نظر می‌رسد. این ترکیبات با فعال کردن مسیرهای سیگنالینگ دفاعی در گیاه، منجر به تقویت پاسخ‌های ایمنی ذاتی آن می‌گردند. با این حال، مکانیسم مولکولی دقیق این القا و نحوه تعامل آن با عوامل شیمیایی متداول در سطح بیان ژن‌های دفاعی کلیدی در گیاه بادام هنوز به خوبی شناخته نشده است. بنابراین، این مطالعه با هدف بررسی ضروری بیان ژن‌های دفاعی مرتبط با مسیرهای پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در برگ‌ها و شاخه‌های درختان بادام آلوده به باکتری عامل شانکر، در شرایط تیمار با سیلیس پتاسیم و اکسی کلرور مس طراحی شد. نتایج این تحقیق می‌تواند مبنای مولکولی مناسبی را برای توسعه راهبردهای نوین و تلفیقی در مدیریت پایدار بیماری شانکر فراهم آورد. در هر صورت داشتن اطلاعات مولکولی در سطح بیان ژن، پایهٔ فهم و ادراک در مورد نحوهٔ چگونگی عوامل بیماری زای گیاهی است (Gholamnezhad 2019).

آنالیز و مقایسه الگوی بیان ژن‌های پاسخ‌دهنده به باکتری *P. syringae* pv. *syringae* هم در سطح ترانسکریپتومیکس و هم در سطح پروتئومیکس می‌تواند اطلاعات ارزشمندی برای برنامه های اصلاحی در اختیار محققین قرار بدهد. هدف از انجام این پژوهش شناسایی ژن‌های درگیر در فرایند دفاعی در درخت بادام رقم مامایی

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

برهم کنش با باکتری *P. syringae* pv. *syringae* و ترکیب سیلیس پتاسیم است تا در مطالعات آینده با بررسی بیان ژن‌های القا شونده با تنش این بیمارگر و نیز ترکیبات غذایی پایه‌های فیزیولوژیکی واکنش به این تنش شناخته شود.

مواد و روش‌ها

محل و مشخصات آزمایش

این آزمایش در آزمایشگاه گیاه‌شناسی، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه اردکان انجام شد. تیمارهای سیلیس پتاسیم از شرکت بارسلوس کشور پرتغال و اکسی کلرور مس با نام تجاری اکسی کلرور مس سمیران ساخت کشور ایران مورد استفاده قرار گرفتند. این تیمارها از داروخانه گیاهپزشکی و کشاورزیی در شهرستان سامان استان چهار محال و بختیاری تهیه شد.

نمونه‌برداری و جداسازی باکتری عامل بیماری شانکر باکتریایی در باغ

باغات درختان بادام واقع در مناطق مختلف استان چهارمحال و بختیاری شهرستان سامان (۳۲،۱۹ درجه شمالی ۵۰،۵۱ درجه شرقی) نمونه‌برداری انجام گرفت. پس از انجام بازدید از باغات بادام، از درختان دارای علایم لکه‌برگی و شانکر باکتریایی، نمونه‌هایی از بافت‌های آلوده، برگ، تنه، شاخه و سرشاخه جمع‌آوری شد و در داخل پاکت‌های کاغذی به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌ها (شش نمونه) در دمای چهار درجهٔ سلسیوس نگهداری شدند. برای جداسازی باکتری، ابتدا برگ‌های دارای علایم لکه برگی نکروزه و شاخه‌های دارای شانکر در زیر جریان آب معمولی شسته شدند و سپس به مدت سه دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم سه درصد قرار گرفتند، سپس با آب‌مقطر استریل شده دو بار شست‌وشو شده و روی کاغذ صافی استریل خشک شد؛ سپس از حدفاصل بافت سالم و آلوده برگ و حاشیه شانکر روی شاخه قطعات یک الی دو سانتی‌متری جدا و در پتری‌دیش به‌وسیله تیغ اسکالپل استریل شده خرد شد و چند قطره آب مقطر استریل شده به آن‌ها اضافه شد. پس از ۱۵ دقیقه، یک لوپ از هر یک از سوسپانسیون‌های باکتریایی برداشته شد و روی محیط کشت نوترینت آگار (NA) دارای پنج درصد سوکروز و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۷ درجهٔ سلسیوس نگهداری شد. تک پرگنه‌های به رنگ کرم، سفید و محدب انتخاب و مجدداً روی محیط آگار غذایی خالص شد؛ از باکتری‌های تازه کشت شده (۲۴ ساعته) سوسپانسیون غلیظی در میکروتیوپ‌های حاوی آب‌مقطر استریل شده تهیه و در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شد. تشخیص باکتری بر اساس آزمون بیوشیمیایی صورت گرفت (Gormez et al. 2013).

آزمون‌های بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و تغذیه‌ای

تمامی جدایه‌ها در آزمون‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و تغذیه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. تعیین واکنش گرم، تولید رنگدانه فلورسنت، فعالیت کاتالاز، تولید اوره‌آز، احیای نیترات، توانایی رشد در دماهای ۳۱ و ۳۵ درجه سلسیوس، هیدرولیز نشاسته و توئین ۸۰، آزمون توانایی استفاده از برخی منابع هیدروکربنی، آزمون LOPAT (تولید لوان، اکسیداز، فعالیت پکتولتیکی، تولید آرژنین دی‌هیدرولاز و واکنش فوق حساسیت روی شمعدانی)، آزمدون GATTa (ذوب ژلاتین، هیدرولیز اسکولین، فعالیت تیروزیناز و استفاده از تارتارات)، رشد هوازی/ بی‌هوازی، تحمل رشد در نمک طعام به‌همراه سایر آزمون‌های رایج با استفاده از روش‌های متداول در باکتری‌شناسی گیاهی مورد ارزیابی قرار گرفت (Giuliano et al. 2019).

آزمون درون آزمایشگاهی

از کشت‌های ۲۴ ساعته باکتری‌ها سوسپانسیونی با غلظت 10^8 سلول باکتری در میلی‌لیتر تهیه شد (غلظت سوسپانسیون با استفاده از روش اسپکتوفتومتری اندازه‌گیری شد). ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون روی محیط کشت نوترینت آگار پخش داده شد. مدتی بعد از خشک شدن سطح پتری‌دیش‌ها (قطر ۱۰ سانتی‌متر) چاهک‌ها به قطر سه میلی‌متر در وسط هر پتری‌دیش ایجاد و حدود ۱۲ میکرولیتر از هر تیمار به صورت جداگانه درون هر چاهک ریخته شد. برای تیمار شاهد از آب‌مقطر استریل استفاده شد. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. درب پتری‌دیش‌ها با پارافیلم بسته و در دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس نگهداری شد. بعد از گذشت ۴۸ ساعت قطر هاله بازدارندهٔ رشد اطراف چاهک اندازه‌گیری و ثبت شد. در نهایت با استفاده از فرمول ۱ درصد بازندارندگی از هالهٔ باکتریایی مورد محاسبه قرار گرفت.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

فرمول ۱:

$$\text{درصد بازدارندگی در محیط کشت} = \frac{\text{قطر هاله در شاهد} - \text{قطر هاله در تیمار}}{\text{قطر هاله در شاهد}} \times ۱۰۰$$

آزمون درون گلخانه‌ای

نهال‌های رقم مامایی بادام گواهی شده دو ساله از نهالستانی واقع در شهرستان سامان تهیه شد. خاک مورد استفاده از سه قسمت کود حیوانی، خاک زراعی و خاکبرگ بود، که در کیسه‌های نشاء با دستگاه اتوکلاو موجود در آزمایشگاه گیاه‌شناسی دانشکده کشاورزی و منابع‌طبیعی چهار بار با فشار بخار آب، سترون گردید و به مدت سه هفته برای بازسازی بافت خاک، در گلخانه نگهداری شد. تمام نهال‌ها در گلدان‌های هم‌شکل و هم‌اندازه ۱۰ کیلوگرمی کاشته و به مدت یک ماه در شرایط گلخانه نگهداری و هر دو روز یکبار آبیاری شدند. به‌منظور بررسی اثر تیمارهای مختلف در کنترل بیماری شانکر باکتریایی، برگ‌های نهال بادام از گلخانه به آزمایشگاه منتقل شدند. مایه‌زنی برگ‌ها در شرایط سترون با سوسپانسیون کشت تازه باکتری با غلظت $۱۰^۸$ سلول باکتری در میلی‌لیتر و به روش سوزن‌زنی انجام شد (Samavi et al. 2009). قبل از مایه‌زنی غلظت‌های مختلف سیلیس پتاسیم، اکسی کلرور مس و تیمار شاهد (آب سترون) به برگ نهال‌ها اسپری شد. برگ‌های مایه‌زنی شده در اتاقک رشد با دمای ۲۵ تا ۲۸ درجه سلیسوس، رطوبت ۷۰ الی ۹۰ درصد و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شد و بعد از دو هفته لکه‌ها بر اساس فرمول ۲ اندازه‌گیری شد.

فرمول ۲:

$$\text{درصد بازدارندگی لکه برگی} = \frac{\text{مساحت لکه در تیمار} - \text{مساحت لکه در شاهد}}{\text{مساحت لکه در شاهد}} \times ۱۰۰$$

اندازه‌گیری مشخصات فیزیکی میوه

محلول‌پاشی سیلیس پتاسیم (غلظت ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) و اکسی کلرور مس (غلظت ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) بر روی درختان تیمار (سه تکرار) در باغ در اوایل فروردین ماه قبل از باز شدن جوانه‌های گل در دو مرحله انجام گرفت و برای هر درخت هشت لیتر محلول به کار رفت. برای جذب بهتر مواد، محلول‌پاشی در ساعات خنک بعد از ظهر انجام گرفت؛ در اواخر خرداد ماه (بعد از تشکیل شدن پوسته سخت) از هر درخت ۱۰ میوه جهت اندازه‌گیری صفات مورد نظر جمع‌آوری شد؛ بدین منظور وزن‌تر میوه، طول میوه و عرض میوه به‌طور مجزا اندازه‌گیری شد.

کشت رقم بادام مامایی جهت انجام بررسی‌های آزمایشگاهی و بیان ژن

به‌منظور بررسی اثر سیلیس پتاسیم بر بیان ژن‌های دفاعی گیاه، رقم مامایی (رقم غالب منطقهٔ سامان) کشت شدند. نهال‌های ضدعفونی شده بادام مطابق شرایط بالا کشت شدند. این آزمایش در دو سطح قبل از وجود باکتری و بعد از وجود باکتری و با سه تکرار انجام شد. در آزمایش قبل از حمله بیمارگر ابتدا نهال‌های بادام توسط مقدار ۳۰ میلی‌لیتر از سیلیس پتاسیم با غلظت ۷۵ درصد اسپری (به‌وسیلهٔ سم‌پاش دستی دو لیتری با قطر داخلی روزنه نازل یا اوریفیس ۰/۸ میلی‌متر) شد و ۲۴ ساعت بعد هر نهال توسط تعداد $۱۰^۸$ باکتری مایه‌زنی شد. در آزمایش پس از حمله بیمارگر ابتدا هر نهال توسط تعداد $۱۰^۸$ باکتری مایه زنی شد و ۲۴ ساعت بعد توسط مقدار ۳۰ میلی‌لیتر سیلیس پتاسیم با غلظت ۷۵ درصد اسپری شد. تیمارها در این مطالعه شامل شش تیمار، سیلیس پتاسیم و اکسی کلرور مس هر کدام در سه غلظت ۵۰۰، ۱۰۰۰و ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در نظر گرفته شدند، تمامی تیمارها با گیاه سالم مایه زنی شده با آب‌مقطر و بدون تیمار باکتری مورد مقایسه قرار گرفتند. در این مطالعه، شاهد شامل گیاه مایه‌زنی شده با باکتری بدون استفاده از سیلیس پتاسیم و اکسی کلرور مس بودند.

نمونه‌برداری از برگ‌های بادام آلوده به عامل بیماری شانکر باکتریایی، جهت انجام آزمایش‌های ارزیابی بیان ژن در زمان‌های ۰ (در زمان مایه زنی) و روزهای دهم، بیستم، سی ام و چهلم بعد از مایه‌زنی بیمارگر و اسپری شدن سیلیس پتاسیم انجام گرفت و بلافاصله نهال‌ها در محل نمونه‌برداری به ظرف نیتروژن مایع منتقل و سپس در فریزر ۷۰ – درجه سلسیوس آزمایشگاه ذخیره شدند در مطالعات مربوط به اندازه‌گیری بیان ژن از رقم مامایی و غلظت ۷۵ درصد سیلیس پتاسیم استفاده شد، که این نمونه‌برداری‌ها در پنج نقطه زمانی انجام گرفت.

طراحی آغازگر جهت تکثیر ژن‌های منتخب

در این بررسی میزان بیان ژن‌های پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز با استفاده از روش Real time-PCR انجام شد. آغازگرهای اختصاصی برای هر ژن بر اساس بررسی منابع علمی و مقالات به دست آمدند

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

نکات استاندارد در طراحی آغازگر از جمله طول آغازگر دمای اتصال GC ایجاد دایمر ، تولید لوپ یا حلقه در درون هر یک از آغازگرها و AG مناسب با استفاده از نرم‌افزار Oligo بررسی شد (National Biosciences Inc., Ver.6) جدول (۱) ساخت آغازگر توسط شرکت ژن فن آوران انجام شد.

آغازگرها به‌طور اختصاصی تنها به ژن مورد نظر خود متصل شدند؛ پس از ساخت آغازگرهای اختصاصی برای هر ژن شرایط PCR برای هر یک از جفت آغازگرهای اختصاصی بهینه گشت برای انجام PCR از الگوی cDNA استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا RNA از گیاه استخراج گردید و سپس با استفاده از آنزیم رونویسی معکوس به cDNA تبدیل گشت تا به عنوان الگو در تهیه محصول PCR هر ژن به کار رود (جدول ۱).

در این قسمت، بررسی بیان ژن‌های پراکسیداز و فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز انجام شد. برگ‌های بادام مانند آزمون گلخانه تیمار شدند، و در زمان‌های صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ٤٠ روز بعد از آلوده سازی بادام به باکتری، اندازه‌گیری فعالیت ژن‌ها نیز شد. بعد از نمونه‌برداری، برگ‌ها بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند و تا زمان استفاده در نیتروژن مایع قرار داده و سپس به فریزر ۸۰- درجه سلسیوس منتقل شد.

برای استخراج RNA کل، نمونه‌ها از فریزر خارج شده و بلافاصله در داخل ظرف حاوی نیتروژن مایع قرار گرفت و سپس در داخل هاون و نیتروژن مایع به‌خوبی کوبیده شدند. استخراج RNA توسط کیت RNXplus (سیناژن، ایران) و بر اساس دستورالعمل شرکت انجام پذیرفت (Baranzehi et al. 2019).

ساخت cDNA توسط آنزیم رونویسی معکوس: ساخت رشته cDNA از روی mRNAهای کل سلول با استفاده از آغازگر Oligo-(dt)18 تعبیه شده در کیت RevertAid Reverse Transcriptase (شرکت Thermo Scientific، آلمان) و بر اساس دستورالعمل ارایه شده در کیت انجام شد. به‌منظور اطمینان از عدم آلودگی RNA به DNA ژنومی، قبل از ساخت cDNA با استفاده از آغازگرهای اختصاصی واکنش PCR با این RNA انجام شد و در مورد هیچ یک از RNAهای استخراجی، باندی در واکنش PCR آن‌ها مشاهده نشد.

بررسی الگوی بیان ژن‌های منتخب با روش Real time –PCR: الگوی بیان دو ژن شامل ژن‌های رمز کننده پراکسیداز و فنیل‌آلانین- آمونیالیاز در سطح نسخه‌برداری با استفاده از آغازگرهای مناسب (جدول ۱) و روش PCR کمی از نوع کمیت‌سنجی نسبی بررسی شدند. ژن اکتین به‌عنوان ژن خانه‌دار انتخاب شد. تکثیر cDNA در واکنش کمی PCR از نوع کمیت‌سنجی نسبی، بر طبق دستورالعمل کیت(2x) YTA SYBR Green qPCR Master Mix (یکتا تجهیز آزما، ایران) و با استفاده از ترموسایکلر ویژه PCR کمی (Corbett RG-6000) انجام گرفت. برای تعیین میزان تغییرات بیان ژن‌ها در طی نقاط زمانی از روش Livak استفاده شد. در این روش فرض بر این است که بازده نمونه و کنترل داخلی برابر و ۱۰۰ درصد است و از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ به‌منظور بررسی تغییر بیان ژن استفاده شد. بلافاصله بعد از انجام واکنش Real time PCR، محصول واکنش روی ژل ران شد و از کارکرد اختصاصی واکنش اطمینان حاصل شد. الگوی بیان ژن‌ها با استفاده از دستگاه ترموسایکلر زمان واقعی (Corbett RG-6000) بررسی شد. برای تعیین میزان تغییرات بیان ژن‌ها در طی نقاط زمانی از روش Livak استفاده شد. در این روش فرض بر این است که بازده نمونه و کنترل داخلی برابر و ۱۰۰ درصد است و از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ به‌منظور بررسی تغییر بیان ژن استفاده شد (Livak and Schmittgen 2001).

میانگین مربوط به هر ژن در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار (دو تکرار زیستی و دو تکرار روشی) تجزیه واریانس شد. نتایج به‌دست آمده از Real time RT -PCR با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح خطای یک درصد و با استفاده از نرم‌افزار SAS ver.9.4 انجام گرفت.

نتایج

نتایج آزمون بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی جدایه‌ها

تمامی جدایه‌ها در آزمون‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مورد بررسی قرار گرفتند. تعیین واکنش گرم، آزمون رشد هوازی/ بی‌هوازی، واکنش حساسیت، تولید رنگدانه فلورسنت، تولید لوان، آزمون کاتالاز، لهانیدن ورقه‌های سیب‌زمینی، اوره‌آز، هیدرولیز ژلاتین، تحمل نمک طعام، تولید گاز از گلوکز و هیدرولیز اسکولین

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

و سایر آزمون‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و تغذیه‌ای با استفاده از روش‌های متداول در باکتری‌شناسی گیاهی انجام شد (جدول ۲).

جدول ۱- آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش Real time PCR

Name of genes	دمای ذوب	طول قطعه	Primers seqences	
پراکسیداز	60	280	F	5-ATG GCT CAA CCT GGT GGA TAC C-3
	59		R	5-TCA GCA GGT TGT CCA GTT CAG-3
فنیل آلانین آمونیالیاز	58	300	F	5- GTT GAT GCT CTC GTG GAG TAC -3
	37		R	5-ACA GAC GTA TGA CGA GTA CGG-3

جدول ۲- نتایج آزمون‌های بیوشیمیایی و فنوتیپی جدایه‌های *P. syringae* pv. *syringae* جدا شده از درختان بادام در شهرستان سامان

نام آزمون	نتیجه واکنش	نام آزمون	نتیجه واکنش
واکنش گرم	–	تولید H_2S از سیستئین	–
اکسیداز	–	تولید H_2S از پپتون	–
تولید لوان	+	تولید H_2S از تیوسولفات سدیم	–
لهانیدن سیب زمینی	–	متیل رد	–
واکنش فوق حساسیت	+	تولید ایندول استیک اسید	–
آرژنین دهیدرولاز	–	فسفاتاز	+
رشد در دمای ۴۰ C	+	کتولاکتوز	–
رشد در دمای ۳۹° C	–	استفاده از گلوکز	+
کاتالاز	+	سوکروز	+
هیدرولیز ژلاتین	v	سوربیتول	+
نشاسته	–	گالاکتوز	+
توئین ۸۰	+	فروکتوز	+
کازئین	–	مانیتول	+
اسکولین	v	مانوز	+
لسیتیناز	–	آرابینوز	+
تیروزیناز	–	تری هالوز	–
تحمل نمک طعام ۵ درصد	+	اینوزیتول	–
تحمل نمک طعام ۷ درصد	–	سلوبیوز	+
رشد هوازی	+	رافینوز	–
رشد بی هوازی	–	رامنوز	+
اوره آز	+	لاکتوز	–
احیای نیترات	–	سیترات	+

(+) واکنش جدایه‌ها مثبت بود، (–) واکنش جدایه‌ها منفی بود و (v) واکنش جدایه‌ها متغیر بود

جدول ۳- جدول تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف سیلیس پتاسیم و اکسی کلرور مس بر بازدارندگی از رشد باکتری در محیط کشت Nutrient agar

منبع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)	F
تیمار	۵	۱۰/۸۳	۳/۴۴**
خطای آزمایش	۱۲	۳/۱۴	
کل	۱۷		

**به احتمال ۹۹ درصد ($p\leq$۰/۰۱) اختلاف معنی‌دار است.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

جدول ٤- جدول مقایسه میانگین مربوط به اثر غلظت‌های مختلف سیلیس پتاسیم و اکسی کلرور مس بر بازدارندگی از رشد باکتری در محیط کشت Nutrient agar

ردیف	تیمارها	میانگین بازدارندگی*
١	اکسی کلرور مس ٥٠٠	٦٦/٤٢cd
٢	اکسی کلرور مس ١٠٠٠	٧٤/٣٢b
٣	اکسی کلرور مس ١٥٠٠	٧٨/٢٢a
٤	سیلیس پتاسیم ٥٠٠	٤٤/٣٤f
٥	سیلیس پتاسیم ١٠٠٠	٤٩/٣٦e
٦	سیلیس پتاسیم ١٥٠٠	٥٨/٦٤d

*حروف مختلف نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار در سطح یک درصد بین تیمارهای مورد مطالعه است.

اثر بازدارندگی سیلیس پتاسیم و اکسی کلرور مس بر روی باکتری بیمارگر *P. syringae* pv. *syringae* عامل بیمارگر شانکر باکتریایی در شرایط آزمایشگاهی

در شرایط آزمایشگاهی تیمار سیلیس پتاسیم در غلظت‌های ٥٠٠، ١٠٠٠ و ١٥٠٠ میلی‌گرم بر لیتر و ترکیب مسی اکسی کلرور مس در غلظت‌های ٥٠٠، ١٠٠٠ و ١٥٠٠ میلی‌گرم بر لیتر اثر بازدارندگی بر روی باکتری *P. syringae* pv. *syringae* در شرایط آزمایشگاه داشتند. بهترین اثر بازدارندگی مربوط به اکسی کلرور مس با غلظت ١٥٠٠ میلی‌گرم بر لیتر با درصد بازدارندگی ٧٨/٢٢ و بهترین عملکرد سیلیس پتاسیم با غلظت ١٥٠٠ میلی‌گرم بر لیتر با درصد بازدارندگی ٥٨/٦٤ بود. غلظت‌های ٥٠٠، ١٠٠٠ و ١٥٠٠ میلی‌گرم سیلیس پتاسیم در مقایسه با تیمار شاهد (آب‌مقطر) تفاوت معناداری ازخود نشان دادند، اما از لحاظ آماری در سطح کمتری نسبت به اکسی کلرور مس، قرار داشتند (جدول ٣، جدول ٤)

اثر غلظت‌های مختلف سیلیس پتاسیم و اکسی کلرور مس بر شدت بیماری (کاهش لکه برگی) در شرایط گلخانه‌ای

بررسی‌ها نشان داد که تیمار سیلیس‌پتاسیم در غلظت‌های ٥٠٠، ١٠٠٠ و ١٥٠٠ میلی‌گرم بر لیتر و ترکیب مسی اکسی کلرور مس در غلظت‌های ٥٠٠، ١٠٠٠ و ١٥٠٠ میلی‌گرم بر لیتر تاثیر معناداری در کاهش لکه‌برگی ناشی از باکتری *P. syringae* pv. *syringae* عامل شانکر باکتریای بادام در شرایط گلخانه در مقایسه با تیمار شاهد از خود نشان داد. بیشترین کاهش لکه‌برگی مربوط به اکسی کلرور مس با غلظت ١٥٠٠ میلی‌گرم بر لیتر با درصد کاهش لکه برگی ٧٨/٢٢ بود. بیشترین درصد کاهش لکه برگی در تیمار سلیس پتاسیم مربوط به غلظت ١٥٠٠ میلی‌گرم بر لیتر با درصد کاهش لکه برگی ٥٨/٦٤ بود، که در مقایسه با اکسی کلرور مس از لحاظ آماری در سطح پایین‌تری قرار داشت و در مقایسه با تیمار شاهد در سطح آماری بهتری قرار داشتند (جدول ٥، جدول ٦)

اندازه‌گیری مشخصات فیزیکی میوه

نتایج مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده در مرحله رشد نشان داد که تاثیر تیمار سیلیس پتاسیم با غلظت‌های مختلف در مقایسه با ترکیب شیمیایی اکسی کلرور مس بر اندازه (طول و عرض) و وزن تر میوه بادام در سطح $p\leq$٠/٠١ معنی‌دار بوده و در سطح آماری بهتری قرار دارد، در این آزمایش تیمار سیلیس‌پتاسیم با غلظت ١٥٠٠ میلی‌گرم بر لیتر بهترین عملکرد را در مقایسه با دیگر غلظت‌های سیلیس پتاسیم از خود نشان داد (جدول ٧، جدول ٨).

جدول ٥- جدول تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف سیلیس پتاسیم و اکسی کلرور مس بر کاهش لکه برگی‌های بادام ناشی از باکتری *P. syringae* pv.*syringae*

منبع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)	F
تیمار	٥	١٢/٣٤	٢/٣١**
خطای آزمایش	١٢	٥/٣٢	
کل	١٧		

** به احتمال ٩٩ درصد ($p\leq$٠/٠١) اختلاف معنی‌دار است.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

جدول ٦- جدول مقایسه میانگین مربوط به اثر سیلیس پتاسیم و اکسی کلرور مس بر کاهش لکه برگی بادام ناشی از باکتری *P. syringae* pv. *syringae*

ردیف	تیمارها	میانگین بازدارندگی*
١	اکسی کلرور مس ٥٠٠	٦٠/٣٢c
٢	اکسی کلرور مس ١٠٠٠	٦٤/٥٢bc
٣	اکسی کلرور مس ١٥٠٠	٧٠/٣٤a
٤	سیلیس پتاسیم ٥٠٠	٤٥/١٢e
٥	سیلیس پتاسیم ١٠٠٠	٤٨/٣٤de
٦	سیلیس پتاسیم ١٥٠٠	٥٤/٣٨cd

*حروف مختلف نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار در سطح یک درصد بین تیمارهای مورد مطالعه است.

جدول ٧- تجزیه واریانس صفات (وزن تر، طول میوه و عرض میوه) اندازه‌گیری‌شده بر اثر غلظت‌های مختلف سیلیس پتاسیم و اکسی کلرور مس بر روی باکتری *P. syringae* pv. *syringae* عامل بیماری شانکر باکتریایی در شرایط باغ

منبع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی	وزن تر	طول میوه	عرض میوه
تیمار	٦	٥٦/٦٦**	٣٩/١٢**	٤٣/٦٧**
خطای آزمایش	١٢	٧/٣٤**	٥/٣٢**	٤/٨٣**
CV	١٨	٤/٣٢**	٦/٣٥**	٥/٨٦**

** به احتمال ٩٩ درصد ($p\leq$٠/٠١) اختلاف معنی‌دار است.

جدول ٨- مقایسه میانگین صفات (وزن تر، طول میوه و عرض میوه) اندازه‌گیری‌شده بر اثر غلظت‌های مختلف سیلیس پتاسیم و اکسی کلرور مس بر روی باکتری *P. syringae* pv. *syringae* عامل بیماری شانکر باکتریایی در شرایط باغ

تیمار	وزن تر میوه	طول میوه	عرض میوه
اکسی کلرور مس ٥٠٠	١٥/٩٠fg	٣/٩١ef	٢/١٥de
اکسی کلرور مس ١٠٠٠	١٦/١٣ef	٤/٠١def	٢/٢٢cde
اکسی کلرور مس ١٥٠٠	١٦/٣٢de	٤/٠٣de	٢/٣٠bcd
سیلیس پتاسیم ٥٠٠	١٧/٣٥cd	٤/٦٥bc	٢/٤١bc
سیلیس پتاسیم ١٠٠٠	١٨/١٢bc	٤/٧٥ab	٢/٥٢ab
سیلیس پتاسیم ١٥٠٠	١٨/٤٠a	٤/٨١a	٢/٥٨a
شاهد (آب مقطر)	١٥/٢٥g	٣/٨٧f	٢/١٠e

بررسی بیان ژن‌ها در برهمکنش بادام با ترکیب سیلیس پتاسیم بر باکتری *P. syringae* pv. *syringae*

الگوی بیانی دو ژن فنیل آلانین آمونیالیاز با استفاده از روش کمی PCR زمان واقعی بررسی شد. در این پژوهش برای بررسی میزان بیان ژن‌ها از روش کمیت سنجی نسبی استفاده شد. دو ژن مورد مطالعه شامل ژن‌های رمز کننده پراکسیدار و فنیل آلانین آمونیالیاز بودند. نتایج حاصل از بررسی بیان این ژن‌ها در نقاط زمانی مختلف نشان داد، که این ژن‌ها در زمان‌های مختلف و همچنین تحت تیمارهای مختلف تغییرات بیان نشان دادند. پس از تجزیه واریانس برای هر ژن میانگین مربوط به هر ژن با استفاده از روش دانکن مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها به‌صورت جدول بیان شده است.

فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL)

بر اساس جدول ٩، میزان بیان ژن رمز کننده فنیل آلانین آمونیالیاز در رقم مامایی در زمان اول (صفر روز) در تمام تیمارها نسبت به شاهد تغییرات زیادی نشان نداد. در درختان تیمار شده با باکتری *P. syringae* pv. *syringae* از زمان ٢٤ ساعت تا زمان روز بیستم بیان این ژن روند افزایشی داشت و در بالاترین میزان خود ٨/٣

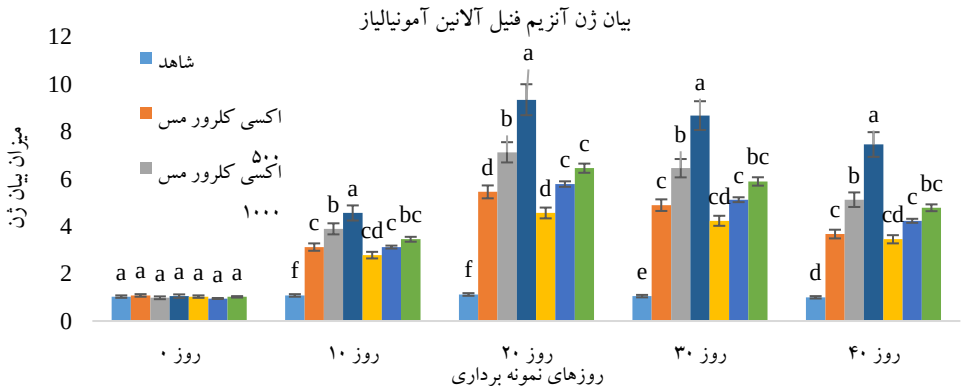
[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

برابر شاهد توسط اکسی کلرو مس بیان شد، که نسبت به شاهد مایه زنی شده با سیلیس پتاسیم افزایش بیان قابل ملاحظه‌ای نشان داد و سپس در روز سی‌ام کاهش بیان داشت. میزان بیان این ژن در مورد تیمار باکتری *P. syringae* pv. *syringae* و سیلیس پتاسیم در روز بیستم به بالاترین میزان خود رسید و پس از آن بیان ژن کاهش یافت. در تیمار سیلیس پتاسیم و باکتری *P. syringae* pv.*syringae* مربوط به سیلیس پتاسیم ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود، که در مقایسه با اکسی کلرو مس ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در سطح آماری پایین‌تر و در مقایسه با اکسی کلرو مس ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و تیمار شاهد در سطح آماری بهتری قرار داشت (جدول ۹، شکل ۱).

جدول ۹- تجزیه واریانس داده‌های بیان ژن آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در برگ بادام در طی زمان‌های نمونه‌برداری

منبع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی	زمان صفر	روز دهم	روز بیستم	روز سی ام	روز چهلم
تیمار	۵	۱۱/۳٤**	۱۳/٦۷**	۲۲/٤٥**	۱٦/۰۸**	۱٤/۰۷**
خطای آزمایش	۱۲	۲/٤٥	۲/۲۹	۰/۹٦	۱/۷٦	٤/۰۳
CV	۱۷	٦/٥۰	۸/۰۷	۹/۱۲	٥/۹۸	۳/۹۱

** به احتمال ۹۹ درصد ($p\leq$۰/۰۱) اختلاف معنی‌دار است.



شکل ۱- مقایسه میانگین تیمارهای مختلف بر میزان بیان ژن آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در برگ بادام در طی زمان‌های نمونه‌برداری، حروف مختلف نشان دهندهٔ اختلاف معنی دار بین تیمارها در سطح یک درصد در هر روز نمونه‌برداری است.

پراکسیداز (POX)

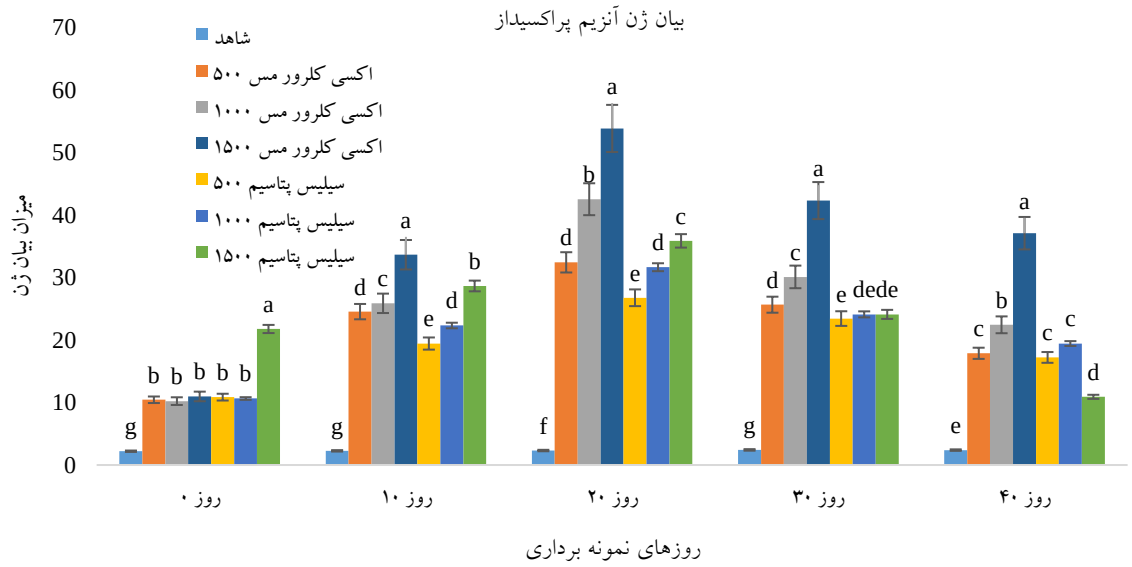
در شکل۲، در رقم مقاوم مامایی میزان بیان ژن رمز کننده پراکسیداز در طول بیست روز پس از اولین نمونه‌برداری در هر سه تیمار روند افزایشی داشته است و پس از طی این مدت در گیاهان مایه زنی شده با سیلیس پتاسیم به بیشترین مقدار خود در بین زمان‌های نمونه‌برداری رسیده است و سپس رو به کاهش گذاشته و این روند کاهشی تا روز چهلم نمونه‌برداری ادامه یافته است. در این روز بیشترین بیان مربوط به تیمار باکتری *P. syringae* pv. *syringae* و اکسی کلرو مس به میزان ۱۵/۵ برابر شاهد بود. در تیمار سیلیس پتاسیم با باکتری بیشترین بیان (۱۵/۵ برابر شاهد) در روز بیستم نمونه‌برداری اتفاق افتاد که با مقدار مربوط به تیمار باکتری و سیلیس پتاسیم دهمین روز پس از مایه زنی با باکتری در این روز اختلاف معنی‌دار نداشت (جدول ۱۰). میزان بیان این ژن در مورد تیمار باکتری با اکسی کلرو مس در همه مقاطع زمانی نمونه‌برداری بیشتر از تیمار استفاده از سیلیس پتاسیم بود.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

جدول ۱۰- تجزیه واریانس داده‌های بیان ژن آنزیم پرکسیداز در برگ بادام در طی زمان‌های نمونه برداری

منبع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی	زمان صفر	روز دهم	روز بیستم	روز سی ام	روز چهلم
تیمار	۵	۱۵/۶۷**	۱۳/۱۲**	۱۲/۴۵**	۱۰/۶۸**	۱۳/۶۷**
خطای آزمایش	۱۲	۰/۵۶	۰/۳۲	۰/۵۶	۱/۳۴	۴/۸۳
CV	۱۷	۶/۵۴	۶/۶۷	۵/۱۲	۸/۲۴	۵/۸۶

** به احتمال ۹۹ درصد ($p\leq$۰/۰۱) اختلاف معنی‌دار است.



شکل۲- مقایسه میانگین تیمارهای مختلف بر میزان بیان ژن آنزیم پراکسیداز در برگ بادام در طی زمان‌های نمونه‌برداری، حروف مختلف نشان دهندهٔ اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در سطح یک درصد در هر روز نمونه‌برداری است.

بحث

کشور ایران جزء کشورهای بیشترین تولیدکننده بادام قرار دارد و این محصول جایگاه ویژه‌ای در بین محصولات باغی کشور دارد؛ در این بین بیماری شانکر باکتریایی یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گیاهی است؛ این بیماری باعث ضعف شدید درخت، خشک‌شدن شاخه، بلاست شکوفه و در موارد شدید باعث خشک شدن کامل درخت می‌شود. مهم‌ترین راه‌حل برای مقابله با این بیماری استفاده از سموم شیمیایی مسی مانند اکسی کلرور مس است که این سموم شیمیایی علاوه بر خاصیت گیاه سوزی و از بین بردن میکروارگانیسم‌های خاک برای سلامتی انسان نیز مضر هستند؛ همچنین باعث ایجاد مقاومت در جمعیت باکتری‌های خاکزی می‌شود (Eteeti and Eteeti 2020).

در آزمایش بیوشیمیایی پژوهش حاضر آزمون واکنش گرم و اکسیداز منفی‌بودن، همچنین تست کاتالز و تست رشد در دمای چهار درجهٔ سلسیوس این باکتری مثبت بود. در پژوهشی تست کاتالاز باکتری *Pseudomonas aeruginosa* مثبت بود، نتیجه تست رشد در دمای چهار درجه سلسیوس نیز مثبت بود (Ashengref and MoatasemZurab 2022). نتایج آزمون بیوشیمیایی و آزمون‌های جدایه‌های باکتری این پژوهش با پژوهشی که روی باکتری *P. syringae* pv. *syringae* درختان بادام صورت گرفت، مشابه بود (Lopez et al. 2009). در پژوهشی بررسی‌ها نشان داد جدایه‌های باکتری *P. syringae* pv. *syringae* از روی نیشکر، درختان هسته‌دار و گندم خصوصیات مشابهی دارند (Mousivand et al. 2009). نتایج پژوهش بررسی خصوصیات فنوتیپی و تنوع ژنتیکی جدایه‌های *P. syringae* pv. *syringae* عامل شانکر

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

باکتریایی بادام در استان خراسان رضوی با نتایج این پژوهش مشابه بود (Ahsani et al. 2019). همچنین نتایج این پژوهش با پژوهشی در سال ۲۰۰۶ مشابه بود (Samavatian et al. 2006).

ترکیبات غذایی مانند سیلیس پتاسیم خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی دارند؛ همچنین باعث افزایش مقاومت درختان در برابر آفات و بیماری‌های مختلف، تنش‌های محیطی و افزایش سیستم ایمنی درختان می‌شوند و می‌تواند جایگزین مناسبی برای سموم مخلوط مسی که خاصیتی گیاه‌سوزی و خطراتی زیست‌محیطی دارد، شوند. در پژوهش حاضر مشخص شد، که غلظت‌های مختلف ترکیب سیلیس‌پتاسیم دارای اثر بازدارندگی علیه باکتری عامل بیماری شانکر باکتریایی هستند. یافته‌های این آزمایش نشان داد، ترکیب سلیس‌پتاسیم اثر بازدارندگی علیه باکتری *P. syringae* pv. *syringae* دارد.

سیلیس دومین عنصر در پوسته زمین است، که می‌تواند نقش مهمی در کاهش اثرات تنش‌های زیستی و غیرزیستی روی گیاهان داشته باشد. این عنصر باعث افزایش مقاومت گیاه به آفات و بیماری‌ها، مقاومت به ورس، افزایش جذب عناصر غذایی (خصوصاً نیتروژن و فسفر) و کاهش تلفات آب می‌شود (Kermani and Amirmoradi 2019). در طی پژوهشی تاثیر کودهای پتاسیم سیلیس و ورمی کمپوست بر کنترل بیماری پوسیدگی ریزوکتونیایی (*Rhizoctonia solani*) لوبیا چیتی بررسی کردند، که نتایج نشان داد غلظت‌های ٤٠٠ و ٨٠٠ کیلوگرم بر هکتار سیلیکات‌کلسیم بیشترین تأثیر را در کنترل پوسیدگی ریزوکتونیایی لوبیا چیتی داشته و ضمن بهبود خصوصیات رویشی گیاه باعث کنترل این بیماری شده است (Zaboli et al. 2017). طی پژوهشی به اثر محلول‌پاشی عناصر سیلیس، پتاسیم و روی بر برخی ویژگی‌های زراعی و خسارت بیماری بلاست و کرم ساقه‌خوار نواری (*Chilo suppressalis Walker*) برنج رقم طارم هاشمی پرداخته شد، که نتایج به‌دست آمده محلول‌پاشی عنصر سلیس توانست باعث افزایش عملکرد دانه همراه با کاهش خسارت کرم ساقه‌خوار و بلاست شود، که محلول‌پاشی عنصر سیلیس بیشترین اثر مثبت را بر صفات مورد مطالعه در مقایسه با عناصر روی و پتاسیم داشت (Sedaghat et al. 2014). در پژوهشی اثر محلول‌پاشی سیلیس در بهبود صفات کمی و کیفی چقدر نقش داشت (Kermani and Amirmoradi 2019). در پژوهشی بهترین عملکرد پروتئین دانه برنج از تیمار کود اوره پوشش‌دار گوگردی به همراه محلول‌پاشی سیلیس به میزان دو در هزار بدست آمد (Hosseini et al. 2019). در پژوهشی اثر سیلیسیوم در برخی صفات مورفوفیزیولوژیک و فیتوشیمیایی گیاه دارویی سرخارگل (*Echinacea purpurea L.*) در تنش شوری مورد ارزیابی قرار گرفت، که بهترین غلظت سیلیسیوم برای کاهش آثار منفی تنش شوری، ۲/۲۵ میلی‌مولار بود (Zare et al. 2018). در پژوهشی اثر محلول‌پاشی سیلیس بر برخی ویژگی‌های رشدی، بیوشیمیایی، زایشی و میزان عناصر برگی گل داوودی (*Chrysanthemum morifolium*)پرداخته شد، نتایج نشان داد که با تغذیه برگی گیاه با سیلیس، وزن تر و خشک برگ، ساقه، گل و ریشه، قطر گل، تعداد گل، پروتئین کل و قندهای محلول افزایش یافت؛ همچنین غلظت عناصر برگی گیاه داوودی، به‌ویژه نیتروژن، فسفر، پتاسیم و روی افزایش و مقادیر عناصر آهن، منگنز و مس کاهش یافت. غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر سیلیکات‌های سدیم و کلسیم برای بهبود ویژگی‌های مورفولوژیک، زایشی و جذب عناصر نیتروژن، پتاسیم، منگنز، آهن و مس مناسب‌ترین غلظت بود؛ ولی برای بهبود جذب عناصر روی و سیلیس، بهترین غلظت از هر دو نوع سیلیکات، غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود (Hajipour et al. 2018).

در پژوهشی بررسی تأثیر سیلیس بر بهبود تحمل به تنش شوری کلرید سدیم در یونجه یکساله ارزیابی شد، که نتایج نشان داد سیلیس احتمالاً با کاهش میزان سدیم و افزایش پتاسیم در سطح ۱/۵ میلی‌مولار موجب بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و کاهش تنش اکسیداتیو شد، این امر منجر به افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی، کارآمدی بیشتر غشاهای زیستی در گیاهان تحت شوری شد. به این ترتیب کاربرد سیلیکون موجب افزایش تحمل تنش شوری گیاه یونجه یکساله می‌شود (Azizi et al. 2016). سیلیس به‌عنوان یک عنصر مفید برای بسیاری از گونه‌های گیاهی شناخته‌شده است؛ در مطالعه‌ای به بررسی اثر تیمار سیلیس بر روی برخی از صفات فیزیولوژیک گیاه کلمو (*Physorhynchus chamaerapistrum*) پرداخته‌شده است، نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد، که سیلیس به‌عنوان یک عنصر معدنی غیرضروری بر

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

گیاهان می‌تواند سبب ارتقاء عملکرد میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاهان شود (Fani and Haji Hashemi 2020).

اگرچه سیلیس به‌عنوان یک عنصر ضروری در تغذیه گیاهان عالی مورد توجه قرار نگرفته است، اما تأثیر مفید آن در رشد و نمو سالم بسیاری از گونه‌های گیاهی ثابت شده است؛ سیلیسیم در برابر بیماری‌های قارچی و باکتریایی گیاهی از طریق تحریک دفاع بیوشیمیایی گیاه شامل، تجمع لیگنین، ترکیبات فنلی و نیز پروتئین‌های مرتبط از گیاهان محافظت می‌کند (Fauteux et al. 2006). به‌طور کلی سیلیس می‌تواند باعث مقاومت در برابر بیماری‌های ایجاد شده به وسیله ریزجانداران شود (Manavi et al. 2020). در پژوهشی سیلیکات کلسیم و پتاسیم بیشترین اثر کنترل علیه بیماری پوسیدگی ریزوکتونیایی را دارند (Zaboli et al. 2017). طی پژوهشی در کاهو کاربرد سیلیس باعث بهبود تحمل به تنش شوری می‌شود؛ سیلیس در القای کاهش میزان تعرق و ممانعت از مسیرهای فرعی تعرق شرکت می‌کند؛ افزایش جذب و انتقال K^+ و کاهش جذب و انتقال Na^+ از ریشه به اندام‌های هوایی جو از طریق تحریک القای سیلیس در H^+–ATPase غشاء پالسمایی ریشه تحت تنش شوری انجام می‌گیرد (Liang et al. 2007).

مطالعه حاضر نشان داد که تیمار با اکسی کلرو مس در غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر موجب افزایش قابل توجه بیان ژن‌های پراکسیداز (۲۳/۲۲برابر) و فنیل‌آلانین آمونیالیاز (۸/۳۳ برابر) در گیاه بادام می‌شود. این نتایج در مقایسه با مطالعات مشابه بر روی سایر گیاهان حاکی از پاسخ دفاعی قوی‌تر در بادام است. به‌عنوان مثال، در گوجه‌فرنگی افزایش بیان پراکسیداز تنها ٤٠ برابر و در انگور افزایش بیان PAL حدود ۱۲ برابر گزارش شده است.

الگوی زمانی بیان این ژن‌ها در بادام منحصر به فرد است، به‌طوری که اوج بیان هر دو ژن در روز بیستم مشاهده شد، در حالی‌که در مطالعات دیگر مانند مرکبات این اوج زودتر (روز ۱۸) و در سیب دیرتر (روز ۲۵) اتفاق افتاده است. مقایسه اثربخشی تیمارها نشان می‌دهد که اسانس اسطوخودوس در بادام بسیار مؤثرعمل می‌کند.

مکانیسم دفاعی در بادام به صورت یک سیستم دو مرحله‌ای عمل می‌کند: مرحله اول شامل پاسخ سریع پراکسیداز در ٢٤–٤٨ ساعت اولیه و مرحله دوم شامل فعال‌سازی مسیر PAL برای تولید متابولیت‌های فنولی است. این الگو متفاوت از پاسخ مشاهده شده در گندم است که بیشتر متکی به مسیرهای وابسته به سیلیس است (Gholamnezhad et al. 2016).

الگوی بیان ژن‌های پراکسیداز و فنیل آلانین آمونیالیاز نشان داد که سیلیس پتاسیم هرچند نتوانست در القای بیان ژن PAL به پای اکسی کلرور مس (۸/۳ برابر در برابر ۲/٦ برابر) برسد، اما در القای بیان ژن پراکسیداز (۱۵/۵ برابر) عملکردی کاملاً مشابه با اکسی کلرور مس داشت. این موضوع نشان می‌دهد، که سیلیس پتاسیم به طور ویژه مسیرهای دفاعی مرتبط با سیستم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند پراکسیداز را به خوبی فعال می‌کند. این یافته از این نظر حائز اهمیت است، که سیستم پراکسیداز به عنوان خط اول دفاعی در برابر استرس‌های اکسیداتیو ناشی از پاتوژن‌ها شناخته می‌شود. این یافته‌ها حاکی از آن است، که پاسخ دفاعی گیاهان به عوامل القاکننده می‌تواند به شدت وابسته به گونه گیاهی باشد. افزایش چشمگیر بیان پراکسیداز در بادام در مقایسه با سایر گونه‌ها ممکن است، ناشی از سازوکارهای تکاملی خاص این گیاه در مقابله با پاتوژن‌ها باشد؛ همچنین، تفاوت در ترکیبات مؤثر ترکیبات مورد استفاده در مطالعات مختلف می‌تواند توجیه‌کننده بخشی از اختلاف نتایج باشد. این مطالعه بر اهمیت انتخاب عوامل القاکننده خاص برای هرگونه گیاهی تأکید دارد.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد، که سیلیس پتاسیم از دو مکانیسم مستقل اثر ضدباکتریایی مستقیم (هرچند متوسط) و القای پاسخ‌های دفاعی سیستمیک در گیاه میزبان برای کنترل بیماری استفاده می‌کند. این دوگانگی مکانیسم عمل، سیلیس پتاسیم را به یک گزینه پایدار و کم‌خطر در برابر پاتوژن‌های باکتریایی تبدیل می‌کند.

منابع

Agrios G N (2005) Plant pathology. Fifth edition, Elsevier Academic Press, London, UK 948-958.

Ahsani H, Mahmoudi Safa J, Nasrollahnejad S, Rahimian H A (2019) Determination of phenotypic characteristics and .isolates, the causative agent of bacterial canker of stone

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

fruit trees in Razavi and North Khorasan provinces. Plant Pests and Diseases 87: 181-193. (In Farsi)
Ashengref M, Moatasem Zurab M (2022) Green synthesis of copper nanoparticles by *Pseudomonas grimonti* bacteria and determination of its antibacterial properties and activity. Microbial Biology 11: 61-79. (In Farsi)
Azizi M, Abdolzadeh A, Mehraban Jobani P, Sadeghipour H R (2016) Studying the effect of silica on improving tolerance to sodium chloride salinity stress in annual alfalfa (*Medicago scutellata L*). Iranian Agricultural Research 14: 133-143.
Baran zehi T, Gholamnezhad J, Dehestani M, Jafari A, Naseri nasab F (2019) 'The evolution of activity and gene expression of some antioxidant enzymes and qualitative characters of orange fruits under cover treatments', Cell and Tissue Journal 10: 226-242. (In Farsi)
Bophela K N, Petersen Y, Bull C, Coutinho T A (2020) Identification of *Pseudomonas* isolates associated with bacterial canker of stone fruit trees in the Western Cape, South Africa. Plant disease 104: 882-892.
Cao T, Dejong T M, Shackel K A, Kirkpatrick B C, Johnson R S (2013) Influence of rootstock, temperature and incubation duration on bacterial canker severity caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* in peach. Fruits 68: 45-55.
De Araujo G G, Rodrigues F, Gonçalves F L T, Galante D, (2019) Survival and ice nucleation activity of *Pseudomonas syringae* strains exposed to simulated high-altitude atmospheric conditions. Scientific reports 9: 7768.
Dulla G F, Krasileva K V, Lindow S E (2010) Interference of quorum sensing in *Pseudomonas syringae* by bacterial epiphytes that limit iron availability. Environmental microbiology 12: 1762-1774.
Eteeti F, Eteeti A (2020) Antibacterial activity of hydroalcoholic extracts of thyme and lemon balm on *Pseudomonas syringae* bacteria in vitro. Cellular and Molecular Research (Iranian Journal of Biology) 33: 136-143. (In Farsi)
Fani A, Haji Hashemi S (2020) The effect of silica foliar application on some physiological traits of the medicinal plant Kalmo (*Physorrhynchus chamaerapistrum*). Bi-Quarterly Journal of Plant Agronomy 10: 92-101.
Fauteux F, Chain F, Belzile J G, Menzies R, Bélanger R (2006) The protective role of silicon in the Arabidopsis-powdery mildew pathosystem. Proceedings of the National Academy of Sciences 103: 7554-7559.
Gholamnezhad J (2019) Effect of plant extracts on activity of some defense enzymes of apple fruit in interaction with Botrytis cinerea. Journal of Integrative Agriculture 17: 1-10.
Gholamnezhad J, Sanjarian F, Mohammadi goltapeh E, Safaei N, Razavi Kh (2016) Study of defense genes expression profile pattern of wheat in response to infection by Mycosphaerella graminicola, Journal of Plant Biological Sciences 8: 43-55.
Giovanardi D, Ferrante P, Scortichini M, Stefani E (2018) Characterisation of *Pseudomonas syringae* isolates from apricot orchards in north-eastern Italy. European Journal of Plant Pathology 151: 901-917.
Giuliano C, Patel C R, Kale-Pradhan P (2019) A guide to bacterial culture identification and results interpretation. Pharmacy and Therapeutis 44: 192-199.
Gormez A, Sahin F, Gulluce M, Aslan I (2013) Identification and characterization of *Pseudomonas syringae* isolated from apricot trees in the erzurum province of Turkey and evaluation of cultivar reaction. Journal of Plant Pathology 525-532.
Hajipour H, Jabarzadeh Z, Rasouli Sedighiani M H (2018) The effect of silica foliar application on some growth, biochemical, reproductive characteristics and leaf element levels of chrysanthemum (*Dendranthema×grandiflorum cv. Fellbacher Wein*), Journal of Soil and Plant Relations 10: 29-46. (In Farsi).
Kaian Hosseini L, Mojdam M, BabaiNejad T (2019) Comparison of urea fertilizer with sulfur-coated urea fertilizer on the quantitative and qualitative yield of rice (*Oryza sativa L.*) under the influence of different amounts of silica, Quarterly Journal of Plant Crop Sciences 9: 27-36. (In Farsi)
Kermani M, Amirmoradi S (2019) The effect of silica foliar application on improving quantitative and qualitative traits of two sugar beet cultivars *(Beta vulgaris L.*) in Torbat Heydariyeh, Journal of Crop Production 12: 129-142. (In Farsi)
Lamichhane J R (2014) *Xanthomonas arboricola* diseases of stone fruit, almond, and walnut trees: progress toward understanding and management. Plant Disease 98: 1600-1610.
Liang Y, Sun W, Zhu Y G, Christie P (2007) Mechanisms of silicon mediated alleviation of a biotic stresses in higher plants: a review. Environmental Pollution 147: 422-428.
Livak K L, Schmittgen T D (2001) Analysis of relative gene expression Data using Real-ti quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method. Methodes 25: 402-408.
Lopez M M, Llop P, Olmos A, Mcro-Noales E, Cambra M, Bertolini E (2009) Are the molecular tools solving the challenges posed by detection of plant pathogenic bacteria and viruses. Current Issues in Molecular Biology 11: 13-46.
Manavi Amri S, Niknejad Y, Fallah Amoli H, Barari Tari D (2020) Comparison of the effects of calcium and potassium silicate fertilizers on some agronomic and biochemical traits of two rice cultivars under drought stress conditions. Journal of Soil and Plant Relations 12: 53-71. (In Farsi)
Martín-Sanz A, De La Vega M P, Murillo J, Caminero C (2013) Strains of *Pseudomonas syringae* pv. syringae from pea are phylogenetically and pathogenially diverse. Phytopathology 103: 673-681.
Mousivand M, Rahimian H, Shamsbakhsh M (2009) Phenotypic and genotypic relatedness among Pseudomonas syringae pv. syringae isolates from sugarcane, stone fruits and wheat. Iranian Journal of Plant Pathology 45: 75–85.
Samavatian H (2006) Identification and distribution of bacterial disease agent of almond tree canker in Isfahan province. Acta Horticulture 726: 667–671.
Samavi S, Hassanzadeh N, Faghihi M M, Danesh Y R (2009) Effects of thyme (zaatar) essential oil and some chemical compounds in the control of citrus bacterial canker in Iran. Journal of Plant Pathology 91: 691-696.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

Sarmili A, Lorestani A N, Aghili Nategh N (2023). Distinguishing almond slices from peanut slices using an electronic nose. Iranian Biosystems Engineering 54: 61-74. (In Farsi)

Scortichini M (2010) Epidemiology and predisposing factors of some major bacterial diseases of stone and nut fruit trees species. Journal of Plant Pathology S73-S78.

Sedaghat N A, Pirdashti H A, Fallah Shamsi S A, Ranjbar A, Leilai S (2014) The effect of foliar spraying of silicon, potassium and zinc elements on some agronomic characteristics and damage caused by blast disease and stem borer (*Chilo suppressalis Walker*) in rice cultivar Tarom Hashemi, Iranian Plant Protection Research 28: 525-531. (In Farsi)

Sharma P, Bora L C, Puzari K C, Baruah A M, Baruah R, Talukdar K, Phukan A (2017) Review on bacterial blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*, different management approaches and role of *Pseudomonas fluorescens* as a potential biocontrol agent. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 6: 982-1005.

Shila S J, Islam M R, Ahmed N N, Dastogeer K M G, Meah M B (2013) Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* associated with the seeds of cucurbits. Universal Journal of Agricultural Research 1: 1-8.

Tomishima H, Luo K, Mitchell A E (2022) The almond (*Prunus dulcis*): Chemical properties, utilization, and valorization of coproducts. Annual Review of Food Science and Technology 13: 145-166.

Tribelli P M, Lujan A M, Pardo A, Ibarra J G, Fernandez Do Porto D, Smania A, López N I (2019) Core regulon of the global anaerobic regulator Anr targets central metabolism functions in *Pseudomonas species*. Scientific Reports 9: 9065.

Wasabi Y, Khakur R, Vinatzer B, Faghihi M M, Sabrvand Adel S (2018) Determination of phenotypic characteristics and grouping of isolates of *Pseudomonas syringae pv. syringae*, the cause of apricot canker in East Azerbaijan province, based on ice nucleation activity. Applied Research in Phytomedicine 7: 19-36. (In Farsi)

Zaboli M, Basirnia T, Mousavi S R (2017) The effect of potassium, silica and vermicompost fertilizers on the control of *Rhizoctonia solani* rot disease of pinto bean, Bi-Quarterly Journal of Plant Disease Research 5: 23-38. (In Farsi)

Zare F, KhorasaniNejad S, Hemmati K (2018) The effect of silicon on some morphophysiological and phytochemical traits of the medicinal plant *Echinacea purpurea L*. under salt stress, Plant Biological Sciences 10: 55-68. (In Farsi)

Zlatković N, Aleksić G, Gašić K (2022) First report of bacterial canker on blueberry (*Vaccinium corymbosum*) caused by *Pseudomonas syringae* pv. syringae in Serbia. Plant Disease 106: 1057-1068.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]