

## اثر سالیسیلیک اسید بر کاهش خسارات ناشی از ویروس Y سیب‌زمینی در دو رقم مارفونا و آگریا

محمد رضا هادی<sup>۱\*</sup>، غلامرضا بلالی دهکردی<sup>۲</sup>، سید محمد رضا موسوی<sup>۳</sup> و فاطمه حسینی<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات فارس، مرودشت، ایران

<sup>۲</sup> گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

<sup>۳</sup> گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مرودشت، مرودشت، ایران

<sup>۴</sup> گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران ۳۶۹۷-۱۹۳۹۵، تهران، ایران

### چکیده

پژوهش حاضر، اثر سالیسیلیک اسید بر میزان کلروفیل a و سطح برگ دو رقم سیب‌زمینی (آگریا و مارفونا) در شرایط گلخانه‌ای به منظور کاهش بیماری‌زایی ویروس Y سیب‌زمینی (PVY) انجام شد. گیاهچه‌های سیب‌زمینی عاری از عوامل بیماری‌زا تکثیر شده و گیاهچه‌های رشد کرده به گلدان‌هایی با خاک مناسب و استریل منتقل شدند. گیاهچه‌ها با غلظت‌های صفر (شاهد)، ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید تیمار شدند. عصاره فعال برگ تنباکوی آلوده با PVY برای آلوده‌سازی گیاهان سیب‌زمینی استفاده شد. علایم آلودگی PVY روی برگ‌های گیاهان آلوده نسبت به گیاهان شاهد در دو رقم آگریا و مارفونا چندان مشهود نبود، اما روی برگ گیاهان تنباکو آلوده با لبه‌های کنکره‌ای آن مشخص می‌شد. نتایج نشان داد که تیمار سالیسیلیک اسید با غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار سبب کاهش ۲۶ درصدی خسارات ناشی از PVY می‌گردد. علاوه بر این، به نظر می‌رسد که رقم مارفونا نسبت به رقم آگریا در برابر PVY مقاومت بیشتری دارد.

**واژه‌های کلیدی:** سیب‌زمینی، سالیسیلیک اسید، ویروس Y

### مقدمه

مقاومت به بیماری‌ها و آفات، بهبود مقاومت به خشکی و نیز افزایش کیفیت محصول اثبات شده است (Rezaie and Soltani, 1996). گیاه سیب‌زمینی با نام علمی *Solanum tuberosum* از مهم‌ترین منابع گیاهی دولپه در تغذیه انسان و چهارمین محصول کشاورزی و مهم جهان است، به طوری که پس از برنج، گندم و ذرت

توسعه اقتصادی جامعه نوین بستگی به تولید گیاهان زراعی دارد، زیرا تولیدات گیاهی به طور مستقیم و غیر مستقیم برای تأمین مواد غذایی مورد نیاز انسان، می‌بایست در حال افزایش باشد. تأثیر تیمارهای برگ‌گی از جمله تأثیر تیمارهای هورمونی در افزایش محصول،

مقاومت به دامنه نسبتاً وسیعی از عوامل بیماری‌زای گیاهی از جمله ویروس‌ها، قارچ‌ها و باکتری‌ها می‌شود (Nie, 2006). آلودگی گیاه توسط پاتوژن‌ها نظیر PVY باعث افزایش میزان سالیسیلیک اسید در گیاه شده (Krečič-Stres *et al.*, 2005)، سبب آغاز یک سلسله واکنش‌های دفاعی در گیاه می‌گردد (Tuzun and Bent, 2006). اثر سالیسیلیک اسید بر کاهش بیماری‌زایی قارچی در گیاه سیب زمینی مطالعه شده است به طوری که Hadi و همکاران (۲۰۰۸) و همچنین Hadi و Balali (۲۰۱۰) گزارش کرده‌اند که سالیسیلیک اسید باعث کاهش خسارات ناشی از قارچ *Rizoctonia solani* بر غده‌های سیب‌زمینی می‌شود و میزان علایم آلودگی بیماری لکه سیاه (black scurf) روی غده‌های سیب‌زمینی را به میزان ۷۲ درصد کاهش می‌دهد. با وجود این، تاکنون در مورد آثار سالیسیلیک اسید در القای مقاومت به ویروس‌ها در گیاه سیب‌زمینی گزارشی منتشر نشده است. هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر سالیسیلیک اسید بر گیاه سیب‌زمینی به منظور کاهش خسارت ناشی از PVY است.

### مواد و روش‌ها

**شرایط رشد:** این پژوهش در سال‌های ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۱ در شرایط گلخانه‌ای انجام گردید. ابتدا ۲۰ عدد گیاهچه سیب‌زمینی عاری از هر گونه آلودگی به بیماری از دو رقم مارفونا (Marfona) و آگریا (Agria) از گروه پژوهشی بیوتکنولوژی سیب زمینی دانشگاه اصفهان تهیه گردید. این گیاهچه‌ها در شرایط استریل از طریق کشت بافت تکثیر و در اتاقک رشد در دمای  $24 \pm 3$  سانتیگراد، شدت نور ۵۵/۶ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه

پرمصرف‌ترین ماده غذایی نزد مردم دنیا است و به دلیل عملکرد بسیار بالا در واحد سطح، انرژی و تعداد پروتئین تولیدی آن از گندم و برنج نیز بیشتر است (Mohtadinia and Mohammadrezaie, 1995). از سوی دیگر، ویروس‌ها مهم‌ترین گروه از عوامل بیماری‌زای گیاهان هستند و یکی از مهم‌ترین معضلات موجود در این مورد، بیماری‌های ویروسی به ویژه ویروس Y سیب‌زمینی (PVY) است (Jellis, 1992). این ویروس متعلق به جنس *Potyvirus* و خانواده ویروس‌های گیاهی به نام *Potyviridae* است (Hull, 2002).

ویروس PVY به سیب‌زمینی، فلفل، گوجه‌فرنگی و توتون حمله می‌کند و در تمام این موارد زیان‌های سنگین به بار می‌آورد (Agrios, 2005). PVY انتشار جهانی (Quenouille *et al.*, 2013) و اهمیت اقتصادی فراوان دارد (Karasev and Gray, 2013) و در حداکثر قدرت بیماری‌زایی خود باعث نقصان ۸۰ درصدی محصول می‌گردد و تقریباً در ۳۴ درصد از نمونه‌های بررسی شده از مزارع سیب‌زمینی در ایران مشاهده شده است (Pourrahim *et al.*, 2007). از این رو، یکی از مهم‌ترین بیماری‌های سیب‌زمینی در کشور، بیماری ویروسی PVY است (Peyman *et al.*, 2004). از مهم‌ترین راهکارهای مبارزه با ویروس‌های گیاهی استفاده از واریته‌های مقاوم یا بهبود مقاومت واریته‌های موجود با استفاده از روش‌های مختلف از جمله کاربرد مواد مؤثر در ایجاد مقاومت نظیر: سالیسیلیک اسید و مشتقات آن به صورت افشانه بر روی گیاه است. مشخص شده است که سالیسیلیک اسید که یا به طور موضعی یا در کل گیاه تولید می‌شود، در ایجاد مقاومت اکتسابی کلی نقش اساسی ایفا می‌کند و باعث ایجاد

شرایط گلخانه، به مدت دو هفته روی هر گلدان لیوان پلاستیکی شفاف قرار داده شد. گیاهچه‌ها در شرایط گلخانه با دمای  $23 \pm 3$  سانتیگراد در روز و  $16 \pm 3$  سانتیگراد در شب تحت نور طبیعی قرار داده و هر ۲-۳ روز آبیاری شدند. پس از هر چهار هفته از زمان کاشت، گلدان‌ها با  $250 \text{ ppm}$  محلول N:P:K به نسبت ۲۰:۲۰:۲۰ کوددهی گردید. برای اطمینان از آلوده نشدن گیاهان توسط شته‌ها یک توری پارچه‌ای مناسب روی گیاهان تحت تیمار قرار داده شد (شکل ۱).

و تناوب نوری ۱۶ ساعت نور / ۸ ساعت تاریکی برای رشد قرار داده شدند. پس از تکثیر گیاهچه‌های سالم به اندازه کافی (۲۰۰ عدد)، گیاهچه‌های رشد کرده به گلدان سفالی (۳ لیتری) منتقل شدند (یک گیاهچه در هر گلدان) (Balali et al., 2008).

خاک گلدان‌ها با ترکیب مناسب (دو قسمت رسی شنی و یک قسمت کمپوزیت)، پس از استریل شدن با ضد قارچ متیل بروماید (methylbromide) استفاده شد. برای نگهداری رطوبت و سازگاری بهتر گیاهچه‌ها با



شکل ۱- مراحل احیای PVY روی گیاه تنباکو و کاشت گیاهان سیب‌زمینی در شرایط گلخانه‌ای. (A) مرحله جوانه‌زنی و رشد دانه‌رست‌ها در گلدان و قرارگیری گلدان‌ها در سینی‌های فلزی لبه‌دار و محتوی مقداری آب در شرایط گلخانه‌ای. در مرحله دو تا سه برگی، گیاهچه‌های اضافی تنباکو از گلدان‌ها خارج گردید و فقط دو تا سه گیاهچه برای آلوده‌سازی ویروسی نگهداری گردید؛ (B) برای جلوگیری از آلودگی گیاهان تنباکو با عوامل انتقال‌دهنده ویروس نظیر شته، گیاهان تنباکو زیر توری پارچه‌ای مناسب رشد داده شدند؛ (C) نمای کلی کاشت گیاهان سیب‌زمینی رقم آگریا و مارفونا، شکل الحاقی پایین: لیوان پلاستیکی استفاده شده برای جلوگیری از تبخیر آب برگ و سازگاری گیاهچه در شرایط گلخانه‌ای؛ (D) استفاده از توری پارچه‌ای برای جلوگیری از ورود عوامل انتقال‌دهنده ویروس مانند شته‌ها.

احیا و فعال گردید، سپس از عصاره برگ‌های جوان آلوده گیاه تنباکو که در این حالت دارای ویروس فعال هستند، برای آلوده‌سازی برگ‌های گیاه سیب‌زمینی

**احیای ویروس Y سیب‌زمینی: ویروس‌های خالص PVY سیب‌زمینی مطابق روش Crosslin و همکاران (۲۰۰۵)** با اندکی تغییر ابتدا در گیاه تنباکو (رقم تامسون)

**نحوه اعمال تیمار ویروسی:** تیمار آلوده سازی گیاهان سالم سیب زمینی با عصاره برگ جوان تنباکو که فقط حاوی PVY است و از طریق ویروس خالص PVY احیا یا فعال گردیده است دو هفته پس از دومین تیمار سالیسیلیک اسید با روش زیر انجام گرفت: یک گرم از بافت برگ آلوده با دو میلی لیتر بافر فسفات عصاره گیری گردید و عصاره ویروسی مذبور با روش ذکر شده در بالا برای آلوده کردن گیاهان سالم استفاده گردید. برای تهیه بافر فسفات با اسیدیته = ۷، می توان از نمک‌های  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (۰/۰۵ مولار) و  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (۰/۰۵ مولار) با نسبت‌های مساوی حجمی استفاده نمود. معمولاً در دمای آزمایشگاه (۲۵ درجه سانتیگراد) با نسبت‌های حجمی مساوی این دو نمک فسفات، اسیدیته بافر فسفات در حد ۷ تنظیم می‌شود.

**تعیین علایم ویروسی و اندازه‌گیری شاخص‌های رشد:** علایم PVY در گیاهان تحت تیمار سالیسیلیک اسید به ویژه گیاهان آلوده و مقایسه آنها با گیاهان سالم (شاهد) بررسی شد. همچنین، سطح برگ، مقدار کلروفیل a، مقدار کلروفیل b، کلروفیل کل، فاصله میانگره، تعداد برگ، طول ساقه، تعداد غده و وزن غده در گیاهان به عنوان شاخص‌های رشد اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری سطح برگ از هر بوته بزرگترین برگ انتخاب شد و با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری سطح برگ (Delte-T devices) و کاغذ میلی‌متری اندازه سطح هر برگ بر حسب سانتی متر مربع محاسبه گردید. میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل (a+b) نیز طبق روش Arnon (۱۹۵۶) اندازه‌گیری شد. ارتفاع هر بوته و فاصله بین میانگره‌ها در هر بوته با خط کش اندازه‌گیری شد. تعداد برگ‌ها و غده‌ها (پس

استفاده گردید. ابتدا بذر گیاه تنباکو رقم تامسون از گروه زیست‌شناسی دانشگاه اصفهان تهیه گردید. تعداد ۱۰ تا ۲۰ عدد از بذرها در گلدان‌های کوچک پلاستیکی حاوی پیت‌ماس در داخل سینی‌های لبه دار (فلزی) که کف آنها مقداری آب وجود داشت، کاشته شد (شکل ۱). به طور معمول یک روز در میان به سینی‌ها آب اضافه شد، پس از یک تا دو هفته تعداد زیادی دانه‌رُست یا نشای تنباکو به وجود آمد. نشاهای اضافی از یک گلدان حذف گردید و فقط ۳ تا ۴ نشای برای مرحله رشد نگه داشته شد. پس از سه تا چهار هفته از زمان جوانه‌زنی و در مرحله ۴ تا ۶ برگی گیاهان تنباکو با PVY با روش زیر تیمار شدند: ۲۵۰ میلی گرم کریستال ویروسی را پس از خرد کردن در یک میلی لیتر محلول بافر فسفات (۰/۰۵ مولار) در داخل یک میکروتیوب ۲ میلی لیتری ریخته، به مدت یک دقیقه تکان داده تا کریستال‌های ویروسی در محلول بافر فسفات حل گردد. سپس، ۵۰ میکرولیتر از محلول ویروسی روی برگ تلقیح گردید.

**طرح آزمایش:** پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل در سه تکرار انجام گردید. عامل اول، نوع رقم سیب زمینی با دو سطح: رقم مارفونا و رقم آگریا بود. عامل دوم، تیمار ویروسی بود با دو سطح: گیاهان سالم و گیاهان آلوده با PVY بود. عامل سوم، تیمار سالیسیلیک اسید با پنج سطح یا غلظت بود.

**تیمار سالیسیلیک اسید:** دو هفته پس از سازگاری گیاهچه‌ها در گلخانه، گیاهان در مرحله ۷-۸ برگی با غلظت‌های صفر (شاهد)، ۰/۲، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی مولار سالیسیلیک اسید ( $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$ , M=138.12) تیمار شدند. تیمارها هر هفته روی برگ‌های گیاهان به میزان ۱۰ میلی لیتر در یک گلدان افشانه شد.

نشان داد، به طوری که برگ گیاهان آلوده با PVY در رقم مارفونا نسبت به برگ گیاهان سالم دارای پیچیدگی و کم رنگ‌تر بود (شکل ۲). مقایسه برگ گیاهان آلوده با PVY در رقم آگریا با برگ گیاهان سالم همین رقم در شکل ۲ نشان داده شده است. برگ آلوده با PVY نسبت به برگ گیاه سالم در این رقم نیز دارای پیچیدگی و کم رنگ‌تر از برگ سالم است. به نظر می‌رسد که چون PVY علائم مشخصی روی برگ‌های سیب‌زمینی رقم مارفونا و آگریا به جا نمی‌گذارد، ممکن است از ارقام مقاوم‌تر سیب‌زمینی باشد. از سوی دیگر، به نظر می‌رسد که تأثیر این ویروس روی سلول‌های بافت برگ به صورت ملایم باشد، زیرا با وجود این که این ویروس سبب کاهش سطح برگ در سیب‌زمینی می‌شود (جدول ۳) اما شکل ظاهری برگ (مورفولوژی برگ) را چندان تغییر نمی‌دهد. نتایج آنالیز واریانس برای صفات بررسی شده در جدول ۱ نشان داده شده است.



شکل ۲- مقایسه علائم PVY در گیاهان سالم و آلوده. (A) مقایسه گیاهان سیب‌زمینی رقم مارفونا با گیاه سالم یا شاهد؛ (B) مقایسه برگ آلوده با PVY رقم آگریا با برگ سالم (همراه با تغییر شکل برگ و پیچیدگی برگ آلوده و کم رنگ‌تر بودن آن)؛ (C) گیاه تنباکوی آلوده با PVY یک تا دو هفته پس از آلودگی ویروسی؛ (D) مقایسه برگ گیاه تنباکوی آلوده با PVY با برگ سالم گیاه تنباکوی.

از برداشت) در هر گلدان محاسبه و وزن غده‌ها با ترازوی دقیق بر حسب گرم اندازه‌گیری شد.

## نتایج و بحث

معمولاً علائم ویروسی روی برگ‌های گیاه پس از دو تا سه هفته از زمان آلودگی ظاهر می‌شوند. علائم ویروسی معمولاً با هم متفاوتند، به طوری که در پژوهش حاضر نشان داده شد که علائم PVY روی برگ گیاهان تنباکو با علائم PVY روی برگ گیاهان سیب‌زمینی کاملاً از یکدیگر قابل تشخیص هستند. علائم PVY روی لبه‌های برگ گیاه تنباکو به صورت کنگره‌ای دیده می‌شود (شکل ۲) در صورتی که در برگ گیاهان سیب‌زمینی (رقم‌های مارفونا و آگریا) چندان مشهود نبود که با گزارش‌های Banttari و همکاران (۱۹۹۳) و Hooker (۱۹۹۰) مطابقت داشت. با وجود این، برگ گیاهان آلوده نسبت به گیاهان سالم تفاوت‌های جزئی

جدول ۱- آنالیز واریانس برای صفات ارزیابی شده. علائم \*\* و \* به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح ۱ و ۵ درصد و علامت ns معنی‌دار نبودن را نشان می‌دهند.

منابع تغییر	درجه آزادی	کلریل a	کلریل b	سطح برگ	فاصله میانگره	تعداد برگ	طول ساقه	تعداد غده	وزن غده
اثر رقم (C)	۱	**	**	**	*	**	**	ns	ns
اثر تیمار ویروس Y (VY)	۱	**	**	**	ns	ns	*	ns	ns
اثر تیمار سالیسیلیک اسید (SA)	۴	**	**	**	ns	ns	**	ns	ns
اثر متقابل C×VY	۱	ns	**	**	ns	ns	**	ns	*
اثر متقابل C×SA	۴	**	**	**	ns	ns	**	ns	ns
اثر متقابل VY×SA	۴	**	**	**	ns	ns	ns	ns	ns
اثر متقابل C×VY×SA	۴	**	**	**	ns	*	ns	ns	ns

**اثر رقم:** نتایج جدول ۱ نشان می‌دهد که اثر رقم بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، سطح برگ، تعداد برگ، طول ساقه در سطح ۱ درصد و روی فاصله میانگره در سطح ۵ درصد معنی‌دار است ولی بر تعداد غده و وزن غده معنی‌دار نیست. همچنین، نتایج نشان داد که میزان کلروفیل b در رقم مارفونا به طور معنی‌داری بیشتر از رقم آگریا بود. این در حالی است که میزان کلروفیل a، سطح برگ، فاصله میانگره، تعداد برگ و طول ساقه در رقم آگریا به طور معنی‌داری بیشتر از رقم مارفونا بود. به علاوه، میزان وزن غده و تعداد غده در رقم آگریا بیشتر از رقم مارفونا بود ولی این اختلاف معنی‌دار نبود. وجود اختلاف بین برخی از صفات بررسی شده در دو رقم می‌تواند ناشی از تفاوت‌های ژنتیکی بین این دو رقم یا در راستای سازش و تحمل گیاهان به آلودگی ویروسی باشد (Parker and Gilbert, 2004).

**اثر تیمار ویروس Y:** نتایج جدول ۱ نشان می‌دهد که اثر تیمار ویروس Y بر میزان کلروفیل‌های a و b و سطح برگ در سطح ۱ درصد و بر طول ساقه در سطح ۵

درصد معنی‌دار است ولی بر تعداد برگ، فاصله میانگره، تعداد غده و وزن غده معنی‌دار نیست. همچنین نتایج نشان داد که میزان کلروفیل a و کلروفیل b در گیاهان سیب‌زمینی آلوده با PVY نسبت به گیاهان سالم به طور معنی‌داری بیشتر بود. در صورتی که سطح برگ و طول ساقه در گیاهان سالم به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان آلوده با PVY بود. به نظر می‌رسد که گیاهان برای مقابله با هر نوع تنش زیستی یا غیرزیستی تغییرات سازگاری را ایجاد می‌کنند (Atkinson and Urwin, 2012). به نظر می‌رسد که افزایش میزان کلروفیل در گیاهان آلوده با ویروس Y در جهت مقابله با تنش ویروسی بوده باشد. بالا بودن سطح برگ و طول ساقه در گیاهان سالم نسبت به گیاهان آلوده با PVY امری طبیعی است زیرا بخشی از انرژی گیاه در گیاهان آلوده صرف مقابله با ویروس می‌شود؛ از این رو، تولید و عملکرد در گیاهان آلوده کمتر از گیاهان سالم خواهد بود.

**اثر تیمار سالیسیلیک اسید:** نتایج جدول ۱ نشان می‌دهد که اثر تیمار سالیسیلیک اسید بر میزان

آگریای آلوده با PVY بود. بیشترین طول ساقه در گیاهان سالم رقم آگریا و کمترین میزان آن در گیاهان آلوده با ویروس Y در رقم مارفونا بود. همچنین، بیشترین وزن غده در گیاهان آلوده با ویروس Y در رقم آگریا و کمترین وزن غده در گیاهان آلوده با ویروس Y در رقم مارفونا بود. تأثیر هر نوع آلودگی نظیر آلودگی باکتریایی، قارچی یا ویروسی بر ارقام مختلف در یک گیاه یکسان نیست و علت آن این است که ارقام مختلف یک گیاه از نظر ژنتیکی با هم متفاوت هستند؛ از این رو، مسیرها یا سازوکارهای مقاومت در یک رقم معمولاً بر اساس شانس بقا گیاه یا درصد کاهش رشد آن می‌توان رقم مقاوم‌تر را مشخص نمود. به طوری که در تهاجم عوامل بیماری‌زا به گیاهان، آن گیاهی که کمتر آسیب بیند رقم مقاوم‌تری محسوب می‌شود.

#### اثر متقابل رقم و تیمار سالیسیلیک اسید: نتایج

جدول ۱ نشان می‌دهد که اثر متقابل رقم و تیمار سالیسیلیک اسید بر میزان کلروفیل‌های a و b، سطح برگ و طول ساقه در سطح ۱ درصد معنی‌دار است اما بر تعداد برگ، فاصله میانگره، وزن غده و تعداد غده معنی‌دار نیست. همچنین نتایج نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a و کمترین میزان آن به ترتیب در غلظت‌های ۲ و صفر میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در رقم آگریا به دست آمد. همچنین، بیشترین میزان کلروفیل b در غلظت ۲ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در رقم مارفونا و کمترین میزان آن در صفر میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در رقم آگریا به دست آمد. مقادیر کلروفیل‌های a و b با افزایش میزان سالیسیلیک

کلروفیل‌های a و b، سطح برگ و طول ساقه در سطح ۱ درصد معنی‌دار است ولی بر تعداد برگ، فاصله میانگره، تعداد غده و وزن غده معنی‌دار نیست. همچنین، نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین میزان کلروفیل‌های a و b به ترتیب در غلظت‌های ۲ و صفر میلی‌مولار سالیسیلیک اسید به دست آمد. علاوه بر این، با افزایش میزان سالیسیلیک اسید، میزان کلروفیل نیز افزایش پیدا می‌کند و یک روند افزایشی در میزان کلروفیل مشاهده می‌شود. در مورد این که چگونه سالیسیلیک اسید موجب افزایش میزان کلروفیل می‌شود، گزارشی وجود ندارد. اما این احتمال وجود دارد که سالیسیلیک اسید از طریق دخالت در مسیر بیوسنتزی کلروفیل باعث افزایش آن شود یا این که از طریق دخالت و افزایش تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط بیماری در گیاه آلوده نقش حفاظتی ایفا می‌کند (Tuzun and Bent, 2006). از سوی دیگر، بیشترین و کمترین سطح برگ به ترتیب در غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۲ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید به دست آمد. به علاوه، بیشترین و کمترین طول ساقه به ترتیب در غلظت‌های ۱ و صفر میلی‌مولار سالیسیلیک اسید به دست آمد.

#### اثر متقابل رقم و تیمار ویروس Y: نتایج جدول ۱

نشان می‌دهد که اثر متقابل رقم و تیمار ویروس Y بر میزان کلروفیل b، سطح برگ و طول ساقه در سطح ۱ درصد و بر وزن غده در سطح ۵ درصد معنی‌دار است ولی بر کلروفیل a، تعداد برگ، فاصله میانگره و تعداد غده معنی‌دار نیست. همچنین نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین میزان کلروفیل b به ترتیب در ارقام مارفونا و

به دست آمد. همچنین، بیشترین میزان کلروفیل b و کمترین میزان آن به ترتیب در غلظت های ۲ و صفر میلی مولار سالیسیلیک اسید در گیاهان سالم سیب زمینی به دست آمد. بیشترین سطح برگ در غلظت ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید در گیاهان سیب زمینی سالم و کمترین سطح برگ در غلظت صفر میلی مولار سالیسیلیک اسید در گیاهان سیب زمینی آلوده با PVY به دست آمد. به نظر می‌رسد سالیسیلیک اسید بر میزان کلروفیل های a و b و سطح برگ در گیاهان آلوده با PVY تأثیر بهبود دهنده‌گی داشته است؛ زیرا میزان کلروفیل ها و سطح برگ با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید تا ۰/۵ میلی مولار افزایش نشان داده است. سطح برگ در گیاهان آلوده با PVY نسبت به گیاهان سالم کمتر است ولی کاربرد سالیسیلیک اسید این کاهش را جبران نموده است.

#### تأثیر متقابل رقم، تیمار ویروس Y و تیمار

**سالیسیلیک اسید:** نتایج جدول ۱ نشان می‌دهد که اثر متقابل این سه عامل بر میزان کلروفیل های a و b و سطح برگ در سطح ۱ درصد و بر تعداد برگ در سطح ۵ درصد معنی دار است ولی بر سایر صفات بررسی شده معنی دار نیست. همچنین، نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین میزان کلروفیل a به ترتیب در غلظت های ۲ و صفر میلی مولار سالیسیلیک اسید در گیاهان آلوده با PVY رقم آگریا به دست آمد. نتایج در شکل ۳-A نشان می‌دهد که با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید، مقدار کلروفیل a در گیاهان سالم و آلوده با PVY در هر دو رقم یک روند افزایشی را دارد، اما این روند در گیاهان آلوده بیشتر مشهود است. علاوه بر این، میزان

اسید در هر دو رقم افزایش نشان داد و میزان کلروفیل b در رقم مارفونا در تمام غلظت های سالیسیلیک اسید بالاتر از رقم آگریا مشاهده شد. بنابراین، شاید بتوان گفت که تأثیر بهبود دهنده‌گی سالیسیلیک اسید بر رقم مارفونا بیشتر از رقم آگریا بوده است. این اثر بهبود دهنده‌گی می‌تواند ناشی از تشدید میزان آنزیم های آنتی‌اکسیدان تولید شده در رقم مارفونا یا جلوگیری از تکثیر ویروس در آن باشد (Singh *et al.*, 2004) هر چند در این رابطه نمی‌توان اظهار نظر قطعی کرد. به علاوه، بیشترین سطح برگ و کمترین سطح برگ به ترتیب در غلظت های ۰/۵ و ۰/۲ میلی مولار سالیسیلیک اسید در رقم آگریا به دست آمد. همچنین، بیشترین طول ساقه در غلظت ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید در رقم آگریا و کمترین سطح برگ در غلظت ۰/۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید در رقم مارفونا به دست آمد. تأثیر سالیسیلیک اسید روی سطح برگ در هر دو رقم سیب زمینی روند مشخصی را نشان نمی‌دهد اما با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید طول ساقه در رقم آگریا تا غلظت یک مولار افزایش نشان داد.

#### اثر متقابل تیمار ویروس Y و تیمار سالیسیلیک

**اسید:** نتایج جدول ۱ نشان می‌دهد که اثر متقابل ویروس Y و سالیسیلیک اسید بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b و سطح برگ در سطح ۱ درصد معنی دار است ولی بر سایر صفات بررسی شده معنی دار نیست. همچنین، نتایج نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a در غلظت ۲ میلی مولار سالیسیلیک اسید در گیاهان آلوده با PVY و کمترین میزان آن در غلظت ۰/۲ میلی مولار سالیسیلیک اسید در گیاهان سالم سیب زمینی



مشخصی چه در گیاهان سالم و چه در گیاهان آلوده با ویروس Y ندارد. با وجود این، در تمام غلظت‌های سالیسیلیک اسید تعداد برگ در گیاهان آلوده با ویروس در رقم آگریا نسبت به رقم مارفونا بیشتر بود.

#### مکانیسم عمل هورمون سالیسیلیک اسید: باید

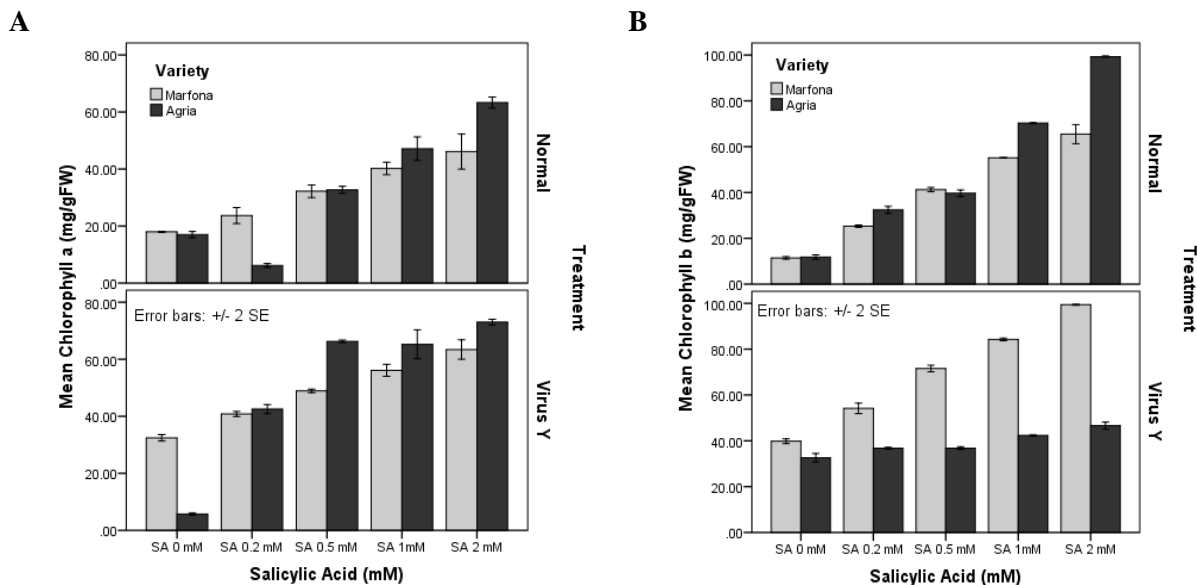
خاطر نشان نمود که اثر بهبود دهندگی هورمون سالیسیلیک اسید در رشد و نمو حد مشخصی دارد، زیرا حمله یک پاتوژن (نظیر PVY) آبخاری از واکنش‌های وابسته به سالیسیلیک اسید را به راه نمی‌اندازد بلکه باعث فعالیت یک شبکه پیچیده هورمونی می‌شود که سالیسیلیک اسید یکی از آنها است (Thomma *et al.*, 2001). پرسشی که مطرح می‌شود این است که سالیسیلیک اسید چگونه باعث بهبود رشد می‌شود؟ در پاسخ به این پرسش باید اشاره نمود که معمولاً در حمله پاتوژن‌ها (مثل ویروس‌ها) به گیاه، مقدار گونه‌های اکسیژن فعال افزایش می‌یابد و ممکن است سالیسیلیک اسید یک حلقه بازخورد مثبت را برای تولید سالیسیلیک اسید فعال و به دنبال آن پاسخ‌های دفاعی در برابر آلودگی پاتوژن را تحریک کند (Slaymaker *et al.*, 2002). از سوی دیگر، گزارش شده است که در گیاهان، سالیسیلیک اسید از رونویسی چندین RNA ویروسی و از حرکت در فاصله‌های طولانی و حتی حرکت سلول به سلول آن جلوگیری می‌کند. به طوری که سامانه دفاعی چند لایه در برابر ویروس‌ها پیشنهاد شده است. در این مدل چنانچه یک ویروس از لایه نخست دفاعی عبور کند، تحت تأثیر لایه‌های دفاعی بعدی قرار می‌گیرد. دفاع ویروسی وابسته به سالیسیلیک اسید علیه RNA و

کلروفیل a در گیاهان تحت تأثیر غلظت سالیسیلیک اسید و آلوده با PVY در رقم آگریا نسبت به رقم مارفونا بیشتر است. بیشترین و کمترین میزان کلروفیل b به ترتیب در گیاهان آلوده با PVY و سالم در رقم مارفونا و به ترتیب در غلظت‌های ۲ و صفر میلی‌مولار سالیسیلیک اسید به دست آمد. همچنین نتایج شکل ۳- B نشان می‌دهد که با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید مقدار کلروفیل b در هر دو رقم سیب‌زمینی هم در گیاهان سالم و هم در گیاهان آلوده با PVY روندی افزایشی دارد. از سوی دیگر، بیشترین سطح برگ در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در گیاهان سالم رقم آگریا و کمترین سطح برگ در غلظت ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید گیاهان آلوده با PVY در رقم مارفونا به دست آمد.

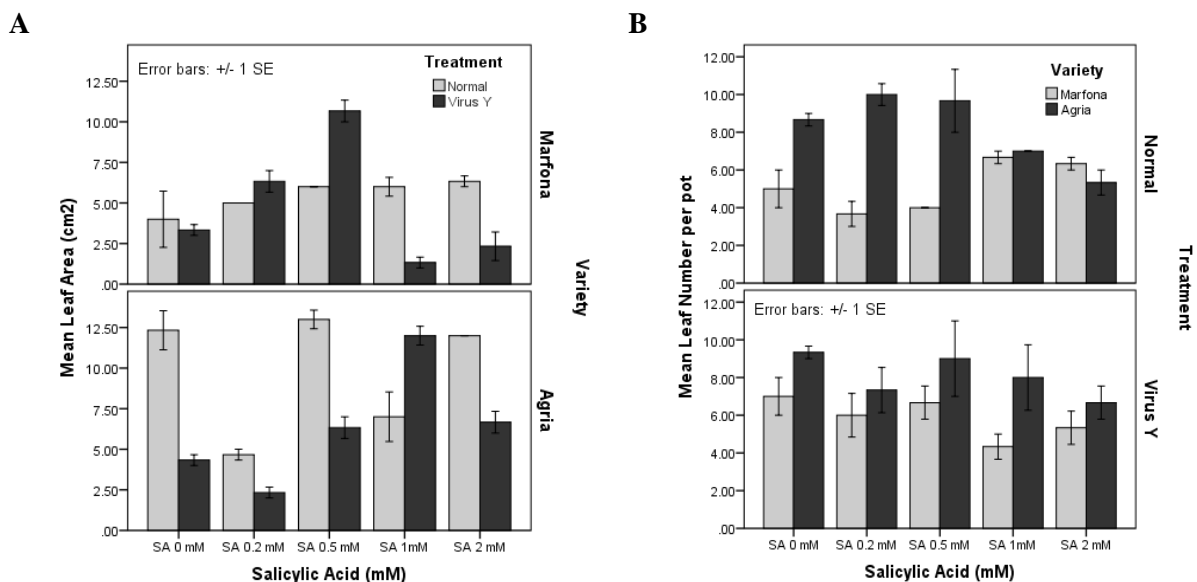
همچنین نتایج شکل ۴-A نشان می‌دهد که تأثیر سالیسیلیک اسید بر سطح برگ در گیاهان سالم و آلوده با PVY در هر دو رقم روند مشخصی ندارد، با وجود این به نظر می‌رسد که گیاهان سالم و آلوده با PVY رقم مارفونا با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید تا غلظت ۰/۵ میلی‌مولار یک افزایش در سطح برگ خود را نشان می‌دهند. به طوری که این افزایش در گیاهان آلوده بیشتر مشهود است، بنابراین، به نظر می‌رسد که سالیسیلیک اسید روی سطح برگ تأثیر مثبتی داشته است. از سوی دیگر، بیشترین تعداد برگ در گیاهان سالم آگریا و کمترین تعداد برگ در گیاهان سالم رقم مارفونا در غلظت ۰/۲ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید به دست آمد. همچنین نتایج در شکل ۴-B نشان داده شده است که تأثیر سالیسیلیک اسید بر تعداد برگ روند

زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی از طریق سالیسیلیک اسید به افزایش گونه‌های فعال اکسیژن منجر می‌شود (Murphy et al., 2004).

همچنین DNA ویروس‌ها عمل می‌کند (Singh et al., 2004). به نظر می‌رسد که اکسیداز نقش مهمی در مقاومت به ویروس ایفا می‌کند و مهار کردن



شکل ۳- A) مقایسه میانگین‌های میزان کلروفیل a (میلی گرم در گرم وزن تر)؛ و B) میانگین‌های میزان کلروفیل a (میلی گرم در گرم وزن تر) در دو رقم سیب‌زمینی (مارفونا و آگریا) در گیاهان سالم و آلوده با PVY رشد یافته در غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید.



شکل ۴- A) مقایسه میانگین‌های سطح برگ (سانتی متر مربع)؛ و B) تعداد برگ (در گلدان) در دو رقم سیب‌زمینی (مارفونا و آگریا) در گیاهان سالم و آلوده با PVY رشد یافته در غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید.

## جمع بندی

### علایم ویروس بر گیاهان تنباکو و سیب زمینی:

علایم PVY بر لبه های برگ گیاه تنباکو به صورت کنگره ای مشاهده شد، در صورتی که علایم این ویروس در برگ گیاهان سیب زمینی (رقم مارفونا و آگریا) چندان مشهود نبود (شکل ۲).

### میزان بهبود دهندگی سالیسیلیک اسید بر رشد:

بر اساس نتایج به دست آمده مشخص شد که سطح برگ در گیاهان سیب زمینی آلوده با ویروس Y، به میزان ۵۳/۰۶ درصد نسبت به گیاهان سالم کاهش داشته است و با کاربرد سالیسیلیک اسید این کاهش به ۲۷/۰۶ درصد رسیده است، بدین معنی که سالیسیلیک اسید اثر بهبود دهندگی ۲۶ درصدی در کاهش میزان سطح برگ در گیاهان آلوده نسبت به گیاهان سالم داشته است. با توجه به این که هر چه میزان سطح برگ بیشتر باشد، میزان جذب دی اکسید کربن، میزان کلروفیل، فتوسنتز و ساخته شدن مواد بیشتر است، این میزان کاهش در سطح برگ در گیاهان آلوده می تواند بخشی از کاهش میزان رشد در گیاهان آلوده را نشان دهد. از سوی دیگر، طول ساقه به میزان ۳۸/۵۳ درصد در گیاهان آلوده نسبت به گیاهان سالم کاهش داشته است و با کاربرد سالیسیلیک اسید این میزان کاهش به ۱۴/۸۵ درصد رسیده است، بدین معنی که سالیسیلیک اسید اثر بهبود دهندگی ۲۳/۶۸ درصدی در کاهش میزان طول ساقه در گیاهان آلوده نسبت به گیاهان سالم داشته است. بنابراین، حداقل بر اساس این دو شاخص، کاربرد سالیسیلیک اسید می تواند دست کم به میزان ۲۶ درصد از کاهش رشد گیاهان سیب زمینی آلوده با PVY جلوگیری نماید. در پایان، به نظر می رسد که حمله

PVY راه اندازی بخشی از یک شبکه پیچیده علامت دهی در گیاهان را به دنبال دارد که هورمون های گیاهی در آن نقش دارند و سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید نقش بارزتری در این زمینه بر عهده دارند (Thomma et al., 2001). به طوری که پس از حمله بیمارگر به گیاه مقدار گونه های اکسیژن فعال افزایش می یابد و پاسخ های دفاعی شکل می گیرد (Slaymaker et al., 2002).

### مناسب ترین غلظت سالیسیلیک اسید برای

**کاربرد:** به نظر می رسد که بهترین غلظت برای کسب حداکثر رشد (کسب بیشترین میزان صفات بررسی شده)، غلظت های ۰/۵ تا ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید باشد. هر چند غلظت های بالاتر تا حد ۲ میلی مولار آثار منفی خیلی زیادی بر رشد ندارد و حتی میزان کلروفیل های a و b در این غلظت بیشترین میزان است. **رقم مقاوم به PVY:** با توجه به این که در غلظت صفر میلی مولار سالیسیلیک اسید، کلروفیل a در رقم آگریا آلوده با PVY نسبت به گیاهان سالم به میزان ۶۶/۲۷ درصد کاهش نشان می دهد در صورتی که میزان کلروفیل a در رقم مارفونا در همین شرایط نه تنها کاهش پیدا نکرده است بلکه افزایش (۸۰/۷۰ درصد) نیز داشته است، به نظر می رسد بر اساس این شاخص رقم مارفونا نسبت به رقم آگریا مقاومت بیشتری در برابر ویروس Y نشان داده است.

همچنین در این شرایط، کلروفیل b در رقم آگریا آلوده با PVY نسبت به گیاهان سالم به میزان ۱۷۵/۷۷ درصد افزایش نشان داد در صورتی که میزان کلروفیل b در رقم مارفونا در همین شرایط افزایش (۲۴۷/۸۸ درصدی) یافته است، بنابراین، بر اساس این

مارفونا نسبت به رقم آگریا مقاومت بیشتری در برابر ویروس Y نشان داده است. در مجموع، به نظر می‌رسد که سیب زمینی رقم مارفونا نسبت به رقم آگریا دارای مقاومت بیشتری نسبت به PVY است.

### سپاسگزاری

نگارندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات فارس به خاطر حمایت‌های مالی و از گروه پژوهشی بیوتکنولوژی سیب‌زمینی دانشگاه اصفهان به خاطر فراهم نمودن امکانات جهت انجام پژوهش و از جناب آقای دکتر منصور شریعتی از گروه زیست‌شناسی دانشگاه اصفهان به خاطر در اختیار قرار دادن بذر تنباکو کمال تشکر و قدردانی را دارند.

شاخص نیز رقم مارفونا نسبت به رقم آگریا مقاومت بیشتری در برابر ویروس Y نشان داده است. از سوی دیگر، در غلظت صفر میلی مولار سالیسیلیک اسید، سطح برگ در رقم آگریا آلوده با PVY نسبت به گیاهان سالم به میزان ۶۴/۸۶ درصد کاهش نشان می‌دهد در صورتی که میزان سطح برگ در رقم مارفونا در همین شرایط ۱۶/۶۷ درصد کاهش پیدا کرده است، بنابراین، بر اساس این شاخص نیز رقم مارفونا نسبت به رقم آگریا مقاومت بیشتری در برابر ویروس Y نشان داده است. از سوی دیگر، در همین شرایط، تعداد برگ در رقم آگریا آلوده با PVY نسبت به گیاهان سالم به میزان ۷/۶۸ درصد افزایش نشان داد در صورتی که میزان سطح برگ در رقم مارفونا در همین شرایط ۴۰ درصد افزایش داشت، بر اساس این شاخص نیز رقم

### منابع

- Agrios, G. N. (2005) Plant pathology. Academic Press, New York.
- Arnon, D. I. (1956) Photosynthesis by isolated chloroplasts. I. V. General concept and comparison of three photochemical reactions. *Biochemica et Biophysica Acta* 20: 449-461.
- Atkinson, N. J. and Urwin, P. E. (2012) The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *Journal of Experimental Botany* 63(10): 3523-3543.
- Balali, G. R., Hadi, M. R., Naderi, A. G., Eslami, A. H., Yavari, P. and Bidram, H. (2008) Effect of pot size, date of planting and germplasm on mini tuber production of potato. *African Journal of Biotechnology* 7(9): 1265-1270.
- Bantari, E. E., Ellis, P. J. and Khurana, S. M. P. (1993) Management of diseases caused by viruses and virus-like pathogens. In: *Potato health management* (Ed. Rowe, R. C.) 127-133. The American Phytopathological Society Press, St. Paul, Minnesota.
- Crosslin, J., Hamm, P., Shiel, P., Hane, D., Brown, C. and Berger, P. (2005) Serological and molecular detection of tobacco vein necrosis isolates of potato virus Y (PVYN) from potatoes grown in the western United States. *American Journal of Potato Research* 82: 263-269.
- Hadi, M. R. and Balali, G. R. (2010) The effect of salicylic acid on the reduction of *Rizoctonia solani* damage in potato. *American-Eurasian Journal Agricultural and Environmental Sciences* 7(4): 492-496.
- Hadi, M. R., Balali, G. R. and Taheri, R. (2008) The effect of Salicylic acid on the reduction of *Rizoctonia solani* damage in potato. In: *Proceedings of the 1<sup>st</sup> National Seminar of potato*, Ardabil, Iran (in Persian).

- Hooker, W. J. (1990) Compendium of potato disease. The American Phytopathological Society Press, St. Paul, Minnesota.
- Hull, R. (2002) Matthews' plant virology. Academic Press, San Diego, California.
- Jellis, S. (1992) Multiple resistance to diseases and pests in potatoes. *Euphytica* 63: 51-58.
- Karasev, A. V. and Gray, S. M. (2013) Continuous and emerging challenges of potato virus Y in potato. *Annual Review of Phytopathology* 51: 571-586.
- Krečič-Stres, H., Vučak, C., Ravnikar, M. and Kovač, M. (2005) Systemic potato virus YNTN infection and levels of salicylic and gentisic acids in different potato genotypes. *Plant Pathology* 54: 441-447.
- Mohtadina, J. and Mohammadrezaie, R. (1995) Agronomy and potato storage. Agriculture Research Press, Tehran (in Persian).
- Murphy, A. M., Gilliland, A., York, C. J., Hyman, B. and Carr, J. P. (2004) High-level expression of alternative oxidase protein sequences enhances the spread of viral vectors in resistant and susceptible plants. *Journal of General Virology* 85: 3777-3786.
- Nie, X. (2006) Salicylic acid suppresses potato virus Y isolate N:O-induced symptoms in tobacco plants. *Phytopathology* 96: 255-263.
- Parker, I. M. and Gilbert, G. S. (2004) The evolutionary ecology of novel plant-pathogen interactions. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 35: 675-700.
- Peyman, M., Ghannadha, M. R., Majidi, S., Zarbakhsh, A. J., Darvish, F. and Hasanabdi, H. (2004) Identification and introduction of virus resistant genotypes in potato. *Iranian Journal of Agriculture Science* 35(4):809-815 (in Persian).
- Pourrahim, R., Farzadfar, S. H., Golnaraghi, A. R. and Ahoonmanesh, A. (2007) Incidence and distribution of important viral pathogens in some Iranian potato fields. *Plant Disease* 91: 609-615.
- Quenouille, J., Vassilakos, N. and Moury, B. (2013) Potato virus Y: a major crop pathogen that has provided major insights into the evolution of viral pathogenicity. *Molecular Plant Pathology* 14: 439-452.
- Rezaie, A. M. and Soltani, A. (1996) Potato farming: introduction to potato production. Iranian Academic Center for Education, Culture and Research, Mashhad Press, Mashhad (in Persian).
- Singh, D., Moore, K. A., Gilliland, A. and Carr, J. P. (2004) Activation of multiple antiviral defence mechanisms by salicylic acid. *Molecular Plant Pathology* 5: 57-63.
- Slaymaker, D. H., Navarre, D. A., Clark, D., del Pozo, O., Martin, G. B. and Klessig, D. F. (2002) The tobacco salicylic acid-binding protein 3 (SABP3) is the chloroplast carbonic anhydrase, which exhibits antioxidant activity and plays a role in the hypersensitive defense response. *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, USA 99: 11640-11645.
- Thomma, B. P. H. J., Penninckx, I. A. M. A., Broekaert, W. F. and Cammue, B. P. A. (2001) The complexity of disease signaling in Arabidopsis. *Current Opinion in Immunology* 3: 63-68.
- Tuzun, S. and Bent, E. (2006) Multigenic and induced systemic resistance in plants. Springer Science and Business Media, Inc., New York.

## The effects of salicylic acid in reducing potato virus Y damage in two potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars, Agria and Marfona

Mohammad Reza Hadi <sup>1\*</sup>, Gholamreza Balali Dehkordi <sup>2</sup>, Mohammad Reza Moosavi <sup>3</sup>  
and Fatemeh Hosseini <sup>4</sup>

<sup>1</sup> Department of Biology, Islamic Azad University, Fars Science and Research Branch, Marvdasht, Iran

<sup>2</sup> Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

<sup>3</sup> Department of Plant Pathology, College of Agriculture, Islamic Azad University, Marvdasht Branch, Marvdasht, Iran

<sup>4</sup> Department of Agriculture Biotechnology, Payame Noor University, 19395-3697 Tehran, I. R. of Iran

### Abstract

In this study, in order to reduce the pathogenesis of potato virus Y in two potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars (Marfona and Agria), the effects of salicylic acid on chlorophyll content and leaf area were investigated under greenhouse conditions. The healthy potato plantlets were propagated and transferred to pots containing suitable and sterilized soil. The plantlets were sprayed with different concentrations (0, 0.2, 0.5, 1 and 2 mM) of salicylic acid. The leaves were inoculated by potato virus Y, extracted from infected tobacco leaves. Although viral infection symptoms on tobacco were manifested by leaf rippling, no such symptoms were visible on infected potato leaves. Also, results showed that treatments with 0.5 and 1.0 mM of salicylic acid resulted in 26% reduction in potato damages. Moreover, our study revealed that Marfona cultivar was more resistant to potato virus Y than Agria cultivar.

**Key words:** *Solanum tuberosum*, Salicylic acid, Potato virus Y