نشریه تولید گیاهان زراعی
جلد چهاردهم، شماره اول، بهار ۱۴۰۰
۱۹-۳۰
http://ejcp.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/EJCP.2021.17581.2295

تاثیر اسید سالیسیلیک بر عملکرد پنبه و القای مقاومت علیه تنش زیستی

سیداسماعیل رضوی[1*]

[1]استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۱۹

چکیده

سابقه و هدف: تنش‌های زیستی عملکرد و اجزای عملکرد پنبه را تحت تاثیر قرار می‌دهند. بیماری سوختگی برگی آلترناریایی ناشی از *Alternaria alternata* یکی از بیماری‌های برگی بسیار شایع پنبه (*Gossypium* spp.) می‌باشد که در اکثر مناطق کشت پنبه وجود دارد. مهار بیماری از طریق مقاومت ژنتیکی به دلیل فقدان سطح مقاومت بالا در ارقام تجارتی قابل کنترل نیست. در دهه‌های اخیر موثر بودن نمک‌های تحریک‌کننده مقاومت علیه بیمارگرهای گیاهی به‌عنوان روش دوستدار محیط زیست برای مهار بیماری‌های گیاهی مطرح شده است. از این‌رو، تاثیر اسید سالیسیلیک بر مهار بیماری، رشد گیاه و برخی از ویژگی‌های بیوشیمیایی دو رقم از پنبه (*Gossypium hirsutum* L.) شامل ساحل و گلستان تحت تنش بیمارگر *A. alternata* انجام شد.

مواد و روش‌ها: آزمایش با چهار سطح مختلف اسید سالیسیلیک (۰، ۰/۵، ۱ و ۵ میلی‌مولار) به صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی و با چهار تکرار در شرایط مزرعه طراحی شد. گیاهان پنبه ۲۰ روزه توسط محلول اسید سالیسیلیک محلول‌پاشی شدند و محلول‌پاشی دو مرتبه با فاصله ۱۴ روز تکرار شد. تاثیر اسید سالیسیلیک بر تغییر صفات رشدی (ارتفاع بوته و تعداد شاخه زایا)، عملکرد و شاخص بیماری در دو رقم پنبه شامل ساحل و گلستان ارزیابی گردید. همچنین، تغییر میزان فنل کل، فعالیت پراکسیداز و میزان مالون‌دی‌آلدئید با استفاده از روش‌های مبتنی بر رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که جدایه *A. alternata* مورد استفاده در این بررسی روی رقم‌های پنبه بیماری‌زا بود. رقم گلستان در مقابل بیماری لکه برگی آلترناریایی حساسیت بیشتری نسبت به رقم ساحل داشت. کاربرد اسید سالیسیلیک روی برگ عملکرد، شاخص بیماری، کل فنل، فعالیت پراکسیداز و میزان مالون‌دی‌آلدئید را به طور معنی‌داری در هر دو رقم تحت تاثیر قرار داد. این ترکیب در غلظت ۵ میلی‌مولار با افزایش معنی‌دار میزان ترکیب‌های فنلی و فعالیت پراکسیداز، کاهش مالون‌دی‌آلدئید، تنش اکسیداتیو را کاهش داد که با کاهش شدت بیماری همراه بود. افزایش عملکرد و کاهش تنش اکسیداتیو در رقم ساحل به طور معنی‌داری بیشتر از رقم گلستان تحت تاثیر کاربرد اسید سالیسیلیک قرار گرفت. ارتباط بین شاخص بیماری و عملکرد، همچنین تجمع فنل، فعالیت پراکسیداز و میزان مالون‌دی‌آلدئید در برگ و شاخص بیماری در حضور غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک به صورت مدل‌های رگرسیونی به دست آمد.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج این پژوهش، اسید سالیسیلیک با کاهش آلودگی به *A. alternata* و کاهش تنش اکسیداتیو، عملکرد مطلوبی را برای گیاهان پنبه فراهم می‌کند. اگرچه، موثر بودن آن بین دو رقم پنبه مورد بررسی متفاوت بود. از این‌رو، استفاده از اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک رهیافت زیست‌فن‌آور می‌تواند برای بهبود مقاومت به بیماری لکه برگی آلترناریایی پیشنهاد شود.

واژه‌های کلیدی: ارقام پنبه، اسید سالیسیلیک، القای مقاومت، لکه برگی آلترناریایی.

---

[*]مسئول مکاتبه: razavi@gau.ac.ir

این مقاله برگرفته از طرح پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به شماره ۳۸-۳۷۴-۹۶ می‌باشد.

مقدمه

گیاهان می‌توانند در برابر آلودگی عوامل بیماری‌زا به واسطه یک‌سری سازوکارهای متنوع که می‌تواند موضعی یا سیستمیک باشد از خود دفاع کنند. این واکنش‌ها شامل طیف وسیعی از پاسخ‌های دفاعی گیاه است که می‌توانند به طور زیستی توسط برهم‌کنش گیاه با یک عامل بیماری‌زای معین یا در معرض قرارگرفتن گیاه با ترکیب‌های شیمیایی در گیاه تحریک شوند (۲۶). در مقاومت القا شده سیستمیک[1]، مقاومت تحریک‌شده به قسمت‌های سالم گیاه منتقل می‌شود و در نتیجه مقاومت نسبت به دامنه وسیعی از عوامل بیماری‌زا به‌وجود می‌آید (۱). در این رابطه، پیش‌تیمار گیاهان با عوامل غیربیماری‌زا (القاکننده زیستی) یا ترکیب‌های شیمیایی (القاکننده‌های غیرزیستی) می‌تواند مقاومت گیاهان را در محل تیمار و در بافت‌های مجزا از محل اولیه آلودگی افزایش دهد (۲). به این ترتیب، استفاده از محرک‌های تولید فرآورده‌های ثانویه روش مناسبی برای افزایش سطح تولید فرآورده‌های ثانویه است و این ترکیب‌ها نقش مهمی در چرخه تولید فرآورده‌های ثانویه ایفا می‌کنند (۳۱). فعال‌سازی سازوکار دفاعی گیاه و تجمع ترکیب‌های فنلی در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی به عنوان روش جدید برای مدیریت بیماری‌های گیاهی مطرح است (۱۷). این ترکیب‌ها با سازوکارهای متعددی مثل حذف رادیکال آزاد، دادن هیدروژن و حذف اکسیژن تک اتمی، کلات کردن یون‌های فلزی و یا قرار گرفتن به عنوان سوبسترای آنزیم‌های پراکسیداز نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند. همچنین، پلی‌فنل‌ها در سمیت‌زدایی پراکسید هیدروژن و جلوگیری از آسیب به غشای سلولی بسیار اهمیت دارند (۲۳).

اسید سالیسیلیک، به‌عنوان یک تنظیم‌کننده گیاهی، نقش محوری در تنظیم مراحل مختلف رشد و تکامل گیاه، جذب مواد معدنی، فتوسنتز و جوانه‌زدن ایفا می‌کند و به عنوان یک پیام مولکولی مهم در واکنش‌های گیاهی در پاسخ به تنش‌های محیطی شناخته شده است (۱۱، ۱۵). پژوهش‌ها نشان داده که اسید سالیسیلیک می‌تواند مقاومت گیاه را در برابر تنش‌های محیطی از جمله خشکی (۱۸، ۳۱)، سرمازدگی (۱۸)، شوری (۱۹) و بیمارگرهای گیاهی (۳، ۱۲) افزایش دهد. اسید سالیسیلیک همچنین مقاومت به فلزات سنگین را افزایش می‌دهد و کاهش رشد ناشی از آن‌ها را بهبود می‌بخشد (۲۴، ۲۹).

پنبه یکی از قدیمی‌ترین گیاهان زراعی است که توسط بشر اهلی شده است. این گیاه جهت استفاده از الیاف آن در حدود ۵۰۰۰ سال قبل از میلاد کشت می‌شد. گیاه پنبه در طول دوره رشد به بیماری‌های مختلفی مبتلا می‌شود که اهمیت هر یک از آن‌ها به نوع بیماری، رقم پنبه مورد کشت، اعمال روش‌های زراعی و شرایط محیطی بستگی دارد (۳۴). بیماری لکه برگی آلترناریایی پنبه یکی از رایج‌ترین بیماری‌های پنبه در مناطق کشت گیاه می‌باشد و گونه *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl به عنوان عوامل بیماری در استان گلستان در نظر گرفته می‌شود. این بیماری در مناطقی که از شرایط مرطوب و خنک در اول و آخر فصل رشد پنبه برخوردار هستند، نظیر استان‌های گلستان، مازندران، اردبیل و برخی از مناطق استان‌های فارس و خراسان شدت بیشتری دارد (۲۰).

نظر به اهمیت بیماری لکه برگی آلترناریایی در استان گلستان، به‌کارگیری اسید سالیسیلیک جهت افزایش مقاومت گیاه و مهار بیماری مدنظر قرار گرفت. از طرفی، با توجه به اهمیت شناخت سازوکار اسید سالیسیلیک در کاهش تنش‌های زیستی و غیرزیستی، القای مقاومت گیاهان از جنبه بیوشیمیایی با بررسی محتوی کل فنل، فعالیت آنزیم پراکسیداز و میزان تولید مالون دی‌آلدهید ارزیابی شد.

1. Induced systemic resistance= ISR

مواد و روش‌ها

کشت گیاهان و محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک: این آزمایش درمزرعه تحقیقاتی شماره ۱ دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان با عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۹ دقیقه شمالی، طول جغرافیایی ۵۴ درجه و ۱۹ دقیقه شرقی و با ارتفاع ۹۰ متر از سطح دریا با بافت خاک از نوع لوم رسی سیلتی انجام شد. بذرهای پنبه از رقم‌های ساحل و گلستان در چهار ردیف با فاصله بین ردیف ۷۰ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف ۲۰ سانتی‌متر در تاریخ پانزدهم اردیبهشت ۱۳۹۷ کشت شدند. گیاهان ۲۰ روزه توسط محلول اسید سالیسیلیک با غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱ و ۵ میلی-مولار اسید سالیسیلیک با سم‌پاش دستی محلول‌پاشی شدند. محلول‌پاشی تا خیس شدن کامل سطح برگ‌های هر گیاه دو مرتبه با فاصله ۱۴ روز تکرار شد (۱۳، ۳۲).

اندازه‌گیری علائم بیماری لکه برگی آلترناریایی: با توجه به شایع بودن بیماری لکه برگی آلترناریایی در مزارع پنبه، شدت بیماری پس از ۱۳۰ روز با استفاده از مقیاس ۰= فقدان لکه، ۱= ۱ الی ۵ لکه، ۲= ۶ الی ۱۰ لکه، ۳= ۱۰ الی ۲۰ لکه، ۴= بیش از ۲۰ لکه و ۵= آلودگی شدید و ریزش برگ، کمّی شد. میانگین شدت بیماری برای برگ‌های یک گیاه به عنوان شاخص بیماری در نظر گرفته شد (۴).

اندازه‌گیری فنل کل: غلظت فنل کل در ۰/۱ گرم از بافت سه برگ پایینی هر بوته به روش مالنسیک و همکاران (۲۰۰۷) بر اساس تغییر رنگ عصاره‌ی فنلی توسط معرف فولین- سیوکالتو و در معرض کربنات سدیم ۲۰ درصد انجام شد (۲۲). در این رابطه، پس از مخلوط شدن ۰/۴ میلی‌لیتر از عصاره الکلی استخراج شده با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین- سیوکالتو، مقدار جذب نمونه‌ها پس از یک ساعت در طول موج ۷۲۵ نانومتر اندازه‌گیری گردید. برای تهیه منحنی استاندارد از اسیدگالیک استفاده شد و فنل کل برحسب میلی‌گرم اسید گالیک در یک گرم بافت به‌دست آمد.

سنجش مقدار کل پروتئین محلول: برای اندازه‌گیری پروتئین ۰/۲ گرم از بافت برگ مورد نظر در مجاورت نیتروژن مایع به‌تدریج ساییده شد و با ۰/۶ میلی‌لیتر بافر تریس همگن گردید. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. میزان پروتئین کل موجود در عصاره‌ی بافت گیاه با استفاده از معرف برادفورد صورت گرفت و میزان جذب در ۵۹۵ نانومتر (محدوده‌ی نور آبی) با استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. رسم منحنی استاندارد با استفاده از سرم آلبومین گاوی و میزان پروتئین بر حسب میلی‌گرم در هر گرم بافت تَر گیاه محاسبه گردید (۶).

سنجش آنزیم پراکسیداز: برای سنجش مقدار آنزیم پراکسیداز ابتدا ۰/۵ گرم از بافت برگ در هاون چینی در مجاورت نیتروژن مایع به تدریج ساییده شد و با ۱۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (pH =۷، 0.05M) همگن گردید. سپس مخلوط حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰۰g و دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد و سوسپانسیون رویی جهت بررسی میزان تغییر آنزیم پراکسیداز استفاده گردید. اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از H_2O_2 و فنیل‌دی‌آمین و تغییرات جذب نور در طول موج ۴۸۵ نانومتر به‌مدت ۳ دقیقه و هر ۱۵ ثانیه یک‌بار بوده است. مقدار فعالیت آنزیم بر حسب واحد آنزیم بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین (Δ OD/Min/mg.protein) بیان شد (۱۶).

سنجش مالون دی‌الدهید: برای اندازه‌گیری میزان

مالون دی‌الدهید ۰/۲ گرم بافتِ تَر برگ در ۵ میلی‌لیتر از اسید تری‌کلرواستیک[1] ۱ درصد همگن شد. پس از سانتریفیوژ همگن به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت g ۸۰۰۰، به یک میلی‌لیتر از محلول رویی ۴ میلی‌لیتر از محلول محتوی TCA ۲۰ درصد و اسید تیوباربیتوریک[2] ۰/۵ درصد اضافه گردید. نمونه‌ها پس از قرار گرفتن به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سلسیوس و سرد شدن آن‌ها در آب یخ، به‌مدت ۵ دقیقه با سرعت g ۸۰۰۰ سانتریفوژ شدند. در نهایت میزان جذب نمونه‌ها در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر خوانده شد و میزان مالون دی‌الدهید برحسب نانومول در یک گرم بافت به‌دست آمد (۲۷).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

مطالعه در چهار تکرار به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد و نتایج به‌دست آمده با روش ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال $P\leq0.05$ انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار R 4.0.2 صورت گرفت و ترسیم شکل‌ها توسط نرم‌افزار Excel 2007 انجام شد.

نتایج و بحث

شدت بیماری: نتایج بررسی شدت بیماری لکه برگی آلترناریایی نشان داد که دو رقم پنبه مورد بررسی در مقابل بیمارگر آسیب‌پذیر بودند. تجزیه واریانس این صفت نشان داد که بین ارقام پنبه مورد آزمایش از نظر این صفت اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P\leq0.01$، جدول ۱). از نظر شاخص بیماری رقم گلستان و ساحل به ترتیب با میانگین ۳/۴۰ و ۲/۲۲ دارای بیش‌ترین و کم‌ترین شدت بیماری بودند (جدول ۲). مطابق نتایج به‌دست آمده غلظت‌های ۱ و ۵ میلی‌مولار به‌کار رفته از اسید سالیسیلیک در مقایسه با گیاهان شاهد آلوده به طور معنی‌داری باعث کاهش شاخص علائم می‌شدند ($P\leq0.01$، جدول ۲). این کاهش با در نظر گرفتن کلیه ارقام حدود ۲۸/۳ و ۶۱/۹۹ درصد به‌ترتیب برای غلظت‌های ۱ و ۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک محاسبه گردید (شکل ۱).

خسروی و همکاران (۲۰۱۵) با مطالعه ارزیابی مقاومت نسبی هفت رقم پنبه در مقابل *A. alternata* نشان دادند که رقم ترموس-۱۴ بیش‌ترین شدت بیماری و ارقام ب- ۵۵۷ و بختگان کم‌ترین شدت بیماری را دارا بودند. در این بررسی نیز رقم ساحل کم‌ترین میزان بیماری را داشته است (جدول ۲). در پژوهش‌های مختلف، تفاوت در مقاومت نسبی ارقام مختلف پنبه به بیماری‌های سوختگی باکتریایی (۳) و لکه برگی آلترناریایی (۷، ۸) مشاهده شده است.

صفات رشدی و عملکرد: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ارتفاع و تعداد شاخه زایا در بین دو رقم و غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک فاقد اختلاف معنی‌دار بوده است ($P\leq0.05$، جدول ۱)، اما عملکرد گیاه تحت تاثیر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک قرار می‌گرفت ($P\leq0.01$، جدول ۱). بررسی مقایسه میانگین، عملکرد بیشتر رقم گلستان را نسبت به ساحل در گیاهان شاهد (اسید سالسیلیک= صفر) نشان داد (جدول ۲). با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک از ۰/۵ به ۵ مولار، بر میزان عملکرد افزوده می‌شد. در این رابطه، عملکرد در رقم ساحل بیشتر از رقم گلستان تحت تاثیر قرار می‌گرفت (جدول ۲).

نقش اسید سالیسیلیک بر رشد و افزایش عملکرد و اجزای عملکرد گیاهان توسط محققان مختلف گزارش شده است (۳۴، ۳۵). با توجه به تاثیر آلودگی

1. TCA Trichloroacetic acid=
2. Thiobarbituric acid

بر کاهش عملکـرد در پـژوهش‌هـای مختلـف (۳، ۴، ۱۰)، نتایج این بررسی نشان داد که اسید سالیسیلیک با کاهش میزان آلودگی قادر بـه افـزایش عملکـرد گیـاه می‌باشد (شکل ۱). اثر این ترکیب در کاهش بیماری با افزایش عملکرد در هر دو رقم ساحل و گلستان همراه بود (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بر ارقام پنبه بر صفات رشدی و برخی از ویژگی‌های بیوشیمیایی برگ.

Table 1- Analysis of variance of the influence of salicylic acid concentrations on growth traits and biochemical parameters in cotton cultivars.

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square						
		ارتفاع بوته Plant Height	تعداد شاخه زایا Number of sympodial branch	عملکرد وش Lint/seed yield	شاخص بیماری Disease Index	کل فنل Total Phenol	پراکسیداز Peroxidase	مالون دی‌آلدئید Malondialdehyde
رقم Cultivar	1	30.04 ^{ns}	24.05 ^{ns}	2312325**	28.09 **	21559 **	953.8 **	10.592 **
غلظت اسید سالیسیلیک (میلی‌مولار) Salicylic acid concentration (mM)	3	32.00 ^{ns}	12.208 ^{ns}	1090644 **	11.256 **	10383 **	574.6 **	5.586 **
رقم × غلظت اسید سالیسیلیک Cultivar × Salicylic acid concentration	3	52.08 ^{ns}	0.250 ^{ns}	268890 **	0.212 *	406 *	42.1 *	1.072 *
باقیمانده‌ها Residuals	21	100.94	8.625	83411	0.079	131	12.7	0.290
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)		10.11	22.26	9.13	12.41	9.30	12.21	8.55

**: معنی‌دار در سطح ۱ درصد، *: معنی‌دار در سطح ۵ درصد. ns: غیرمعنی‌دار.

**: significant at the 0.01 level, *: significant at the 0.05 level, ns: non significant.

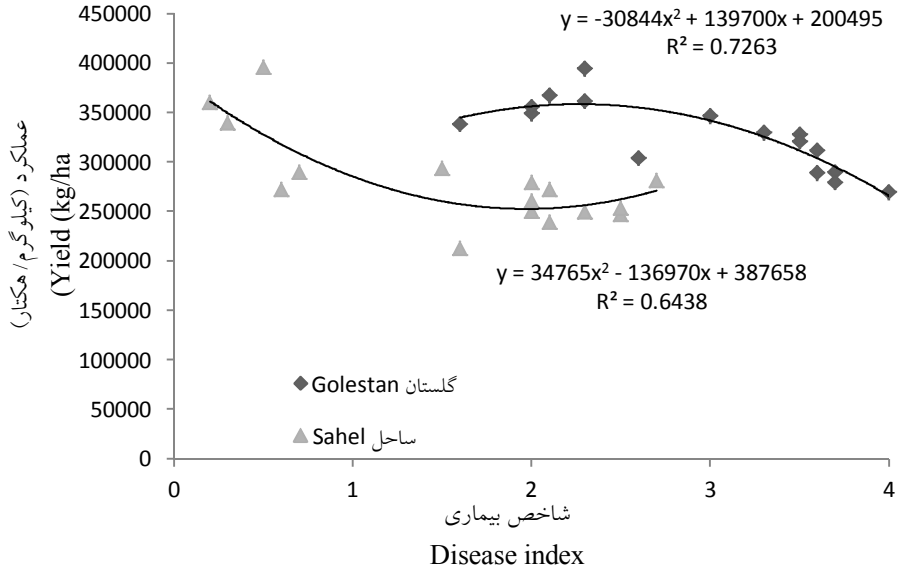
جدول ۲- مقایسه میانگین صفات رشدی و برخی از ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاهان پنبه برای تاثیر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک.

Table 2- Means comparisons of growth and biochemical parameters in cotton plants for influence of salicylic acid concentrations.

غلظت اسید سالیسیلیک (میلی‌مولار) Salicylic acid concentration (mM)	رقم Cultivar	عملکرد وش (کیلوگرم/ هکتار) Lint yield (kg ha^{-1})	شاخص بیماری Disease Index	کل فنل (میلی‌گرم/ گرم وزن تَر) Total Phenol (mg g^{-1} FW)	پراکسیداز (واحد آنزیم/ میلی‌گرم پروتئین) Peroxidase (enzyme unit mg^{-1} protein)	مالون دی‌آلدئید (نانومول/ گرم وزن تَر) Malondialdehyde (nmol g^{-1} FW)
0	Golestan	3119 b*	3.53 a	62.75 e	17.50 d	7.31 a
	Sahel	2658 c	2.22 b	121.00 d	27.78 c	5.48 cd
0.5	Golestan	3495 ab	3.70 a	60.00 e	14.62 d	7.44 a
	Sahel	2691 c	2.30 b	127.80 cd	29.05 c	7.32 a
1	Golestan	3382 ab	2.48 b	158.20 b	30.62 bc	6.75 ab
	Sahel	2547 c	1.45 c	123.40 d	35.30 b	5.35 cd
5	Golestan	3726 a	2.00 b	141.50 c	32.25 bc	6.01 bc
	Sahel	3676 a	0.425 c	188.30 a	46.55 a	4.75 d

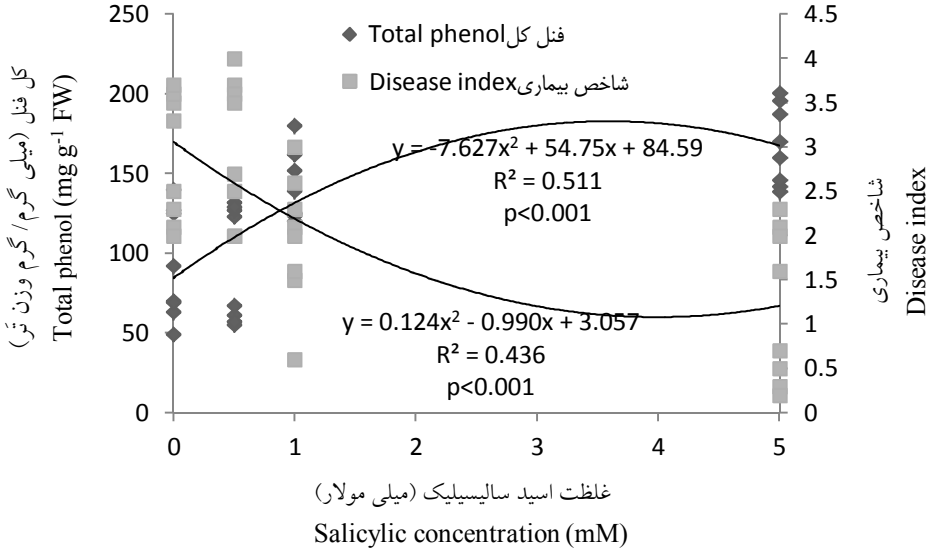
* تیمارهای هر ستون با حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

* Treatments at each column having at least one similar letter do not show a significant difference at $P \leq 0.05$ based on LSD test.



شکل ۱- ارتباط بین شاخص بیماری لکه برگی آلترناریایی و عملکرد در دو رقم پنبه.

Figure 1- The relationship between disease index and yield in two cotton cultivars.



شکل ۲- ارتباط بین شاخص بیماری لکه برگی آلترناریایی و کل فنل تحت غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک در دو رقم پنبه.

Figure 2- The relationship between disease index and total phenol in presence of salicylic acid concentrations in two cotton cultivars.

فنل کل: تجزیه واریانس بین ارقام پنبه مورد بررسی نشان داد که ارقام مورد بررسی از نظر میزان فنل کل برگ در سطح یک درصد اختلاف دارند (جدول ۱). همچنین، برهم‌کنش غلظت اسید سالیسیلیک و رقم بر میزان فنل کل معنی‌دار بود ($P\leq0.05$، جدول ۱). جدول مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک تجمع فنل کل در برگ افزایش یافت (جدول ۲). افزایش فنل کل در برگ در دامنه‌ی ۷۰- ۲۰۰ میلی‌گرم/ گرم وزن تَر، کاهش شاخص بیماری به میزان ۳/۱- ۹۴/۲ درصد را به همراه داشت. در این رابطه، ارتباط بین تجمع فنل در برگ (X) و شدت

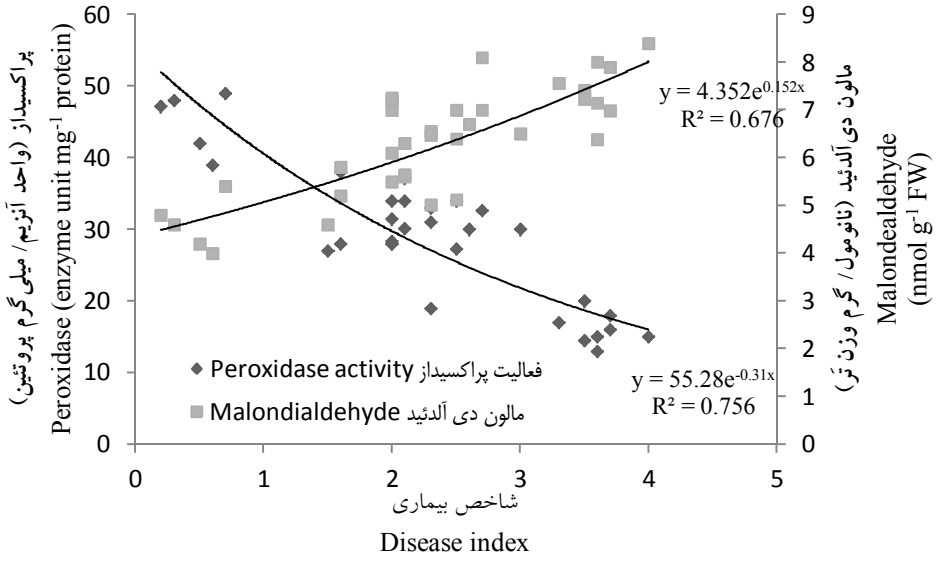
بیماری (Y) به‌صورت مدل رگرسیونی محاسبه گردید (شکل ۱).

گزارش‌های متعدد حاکی از افزایش ترکیبات فنلی در پاسخ به تنش‌های ناشی از عوامل زیستی و غیرزیستی می‌باشد و وجود چنین ترکیباتی موجب کاهش استقرار ریزجانوران می‌شود (۵). از طرفی، به نظر می‌رسد که گیاه در زمان تنش‌های محیطی ناشی از عوامل غیرزیستی، به‌علت تضعیف سیستم ایمنی، ترکیبات فنلی را افزایش می‌دهد تا بتواند واکنش‌های دفاعی مناسبی را در برابر حمله ریزجانوران در پیش گیرد (۱، ۲۶، ۲۸). نقش ترکیبات فنلی مربوط به خواص اکسیداسیون احیا آن‌ها می‌باشد که نقش مهمی در جذب و خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد، فرونشانی اکسیژن‌های فعال و یا پراکسیدازهای تجزیه‌کننده دارند (۲۳). تاثیر اسید سالیسلیک در افزایش ترکیبات فنلی در رقم‌های مقاوم بیشتر از رقم‌های حساس می‌باشد (۳۵). در این بررسی نیز بیماری لکه برگی با افزایش معنی‌دار ترکیب‌های فنلی در برگ‌ها همراه بوده است. افزایش ترکیب‌های فنلی با کاهش شاخص بیماری در ارتباط بود (جدول ۲، شکل ۲). این بررسی هم‌چنین تاثیر این ترکیب بر افزایش بیشتر ترکیبات فنلی علیه آلودگی ناشی از *A. alternata* را در رقم مقاوم ساحل نسبت به رقم حساس گلستان نشان داد (جدول ۲).

فعالیت آنزیم پراکسیداز: جدول تجزیه واریانس بیان‌گر معنی‌دار بودن تاثیر بیماری لکه‌برگی و اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم پراکسیداز بود (جدول ۱)، البته این میزان تاثیر بسته به رقم و غلظت اسید سالیسیلیک متغیر بود (جدول ۲). فعالیت پراکسیداز در بین گیاهان شاهد از ارقام مورد بررسی نشان داد که کم‌ترین فعالیت آنزیم به رقم گلستان مربوط می‌شود (جدول ۲). آلودگی ناشی از *A. alternata* به‌طور معنی‌داری فعالیت آنزیم را در کلیه ارقام مورد بررسی افزایش می‌داد، البته در تیمارهای اسید سالیسیلیک با غلظت‌های ۱ و ۵ میلی‌مولار گیاهچه‌ها میزان پراکسیداز بالاتری نسبت به تیمارهای آلوده به *A. alternata* به‌تنهایی داشتند (جدول ۲). بیش‌ترین و کم‌ترین افزایش به ترتیب به رقم‌های ساحل و گلستان مربوط بود. افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز با کاهش شدت بیماری همراه بوده است (شکل ۳).

سلول‌های گیاهی جهت مقابله با اثرات مخرب انواع اکسیژن فعال از یک‌سری سازوکارهای دفاعی بهره می‌برند که آن‌ها را قادر می‌سازد تا با جمع‌آوری کامل انواع اکسیژن فعال و احیای آن‌ها به آب از آسیب به مولکول‌های زیستی حیاتی پیشگیری نمایند (۲، ۳۰). در بین پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی، آنزیم پراکسیداز از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در فعال شدن سیستم دفاع گیاه نقش فعال‌کننده‌ای دارند و باعث محدود کردن رشد و گسترش بیمارگر در داخل گیاه می‌شوند (۹، ۱۴).

اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک پیام‌آور درون‌زاد در گیاهان تحت تنش‌های زیستی و غیرزیستی مسوول القای تحمل می‌باشد. این ترکیب به عنوان یک محرک تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر پراکسیداز را در گیاهان تحت تنش افزایش می‌دهد (۱، ۲۵). تاثیر اسید سالیسلیک در افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در رقم‌های مقاوم بیشتر از رقم‌های حساس می‌باشد (۳۵). در این بررسی نیز اسید سالیسیلیک افزایش معنی‌داری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ پنبه داشته است که می‌تواند به عنوان یکی از سازوکارهای کاهش شدت بیماری در نظر گرفته شود. تاثیر این ترکیب بر فعال شدن سیستم دفاعی علیه آلودگی ناشی از *A. alternata* در رقم مقاوم ساحل نسبت به رقم حساس گلستان بیشتر بوده است (جدول ۲).



شکل ۳- ارتباط بین شاخص بیماری لکه برگی آلترناریایی با فعالیت پراکسیداز و مالون دی‌آلدئید.

Figure 3- The relationship between disease index with peroxidase and malondialdehyde.

مالون دی‌آلدئید: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که غلظت مالوندی‌آلدئید تحت‌تاثیر بیماری و غلظت اسید سالیسیلیک قرار می‌گیرد (جدول ۱). میزان مالون دی‌آلدئید در بین گیاهان شاهد از ارقام مورد بررسی فاقد اختلاف معنی‌دار بود ($P\leq0.05$، جدول ۱)، اما آلودگی ناشی از *A. alternata* به طور معنی‌داری میزان مالوندی‌آلدئید را در کلیه ارقام مورد بررسی افزایش داد. این افزایش بسته به رقم و میزان آلودگی متفاوت بود و ارتباطی مثبت بین شدت بیماری و میزان مالوندی‌آلدئید مشاهده شد (شکل ۳).

پراکسیداسیون لیپیدهای غشا را می‌توان به‌عنوان نشانه‌ای از آسیب اکسیداتیو در نظر گرفت و اغلب از آن برای تعیین میزان آسیب وارده به غشا تحت تنش استفاده می‌شود. در این رابطه، سنجش مالوندی‌آلدئید به‌عنوان معیاری برای بررسی میزان پراکسیدسیون لیپیدها در نظر گرفته می‌شود (۲۷). حضور قارچ‌ها و باکتری‌های محرک رشد، با کاهش تنش‌های زیستی و غیرزیستی با کاهش آسیب اکسیداتیو (عدم افزایش مالون دی‌آلدئید) همراه بوده است (۱۰). نقش اسید سالیسیلیک نیز در تخفیف اثر تنش‌های زیستی و غیرزیستی و جلوگیری از افزایش مالون دی‌آلدئید مشخص شده است (۳۳). تغییر غلظت مالوندی‌آلدئید در شرایط تنش ناشی از *A. alternata* در این بررسی با نتایج گزارش‌های دیگر در رابطه با تاثیر تنش‌های زیستی پشتیبانی می‌شود (۲۱). نتایج این بررسی همچنین نشان داد که اسید سالیسیلیک با اثر بر پاسخ‌های دفاعی گیاه و کاهش شدت بیماری و آسیب اکسیداتیو، از افزایش غلظت مالوندی‌آلدئید جلوگیری می‌کند.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، از نتایج به‌دست آمده چنین استنباط می‌شود که آلودگی ناشی از *A. alternata* بر فرایند فیزیولوژیک تاثیر می‌گذارد. گیاه به‌منظور سازگاری و تحمل بیشتر در برابر توسعه بیماری با افزایش ترکیب‌های فنلی سازش نشان می‌دهد. افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن آسیب‌های اکسایشی، آسیب به غشای سلولی و کاهش رشد را به‌دنبال دارد. در این رابطه، اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی از طریق افزایش سازوکارهای دفاعی از جمله

آنزیم پراکسیداز و ترکیب‌های فنلی، اثـرات زیـان‌بـار ناشی از آلودگی را کاهش می‌دهد. در بین غلظت‌های اسید سالیسیلیک به کار رفتـه، غلظـت ۵ میلـی‌مـولار بیش‌ترین تاثیر مثبت را در کاهش آثار ناشـی از تـنش آلودگی ناشی از *A. alternata* بر گیاه پنبه دارد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت پژوهشی و فناوری دانشـگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به خاطر تـامین بودجه و سایر مساعدت‌ها تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1. Abbaspour, N., and Babaee, L. 2017. Effect of salicylic acid application on oxidative damage and antioxidant activity of grape (*Vitis vinifera* L.) under drought stress condition. Int. J. Hort. Sci. Technol. 4: 1. 29-50.
2. Agamy, R.A., Hafez, E.E., and Taha T.H. 2013. Acquired resistant motivated by SA applications on salt stressed tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Am. Eur. J. Agric. Environ. Sci. 13: 1. 50-57.
3. Atiq, M., Arooj, S., Rajput, N., Bashir, M.R., Javed, N., Haq, E., Abbas, W., and Khan, B. 2017. Induction of system resistance in cotton against bacterial blight and its effect on yield. Int. J. Biol. Biotechnol. 14: 4. 591-595.
4. Bashan, Y. 1986. Phenol in cotton seedlings resistant and susceptible to *Alternaria macrospora*. J. Phytoapathol. 116: 1. 1-10.
5. Bellaloui, N., Mengistu, A., Zobiole, L.H., Abba, H.K., and Kassem, A. 2014. Soybean seed phenolics, sugars, and minerals are altered by charcoal rot infection in MG III soybean cultivars. Food and Nut. Sci. 5: 19. 1843-1859
6. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 1-2. 248-254.
7. Brock, P.M., Inwood, J.R.B., and Deverall, B.J. 1994. Systemic induced resistance to *Alternaria macrospora* in cotton (*Gossypium hirsutum*). Aust. Plant Pathol. 23: 2. 81-85.
8. Colson-Hanks, E.S., and Deverall, B.J. 2000. Effect of 2,6-dichloroisonicotinic acid, its formulation materials and benzothiadiazole on systemic resistance to alternaria leaf spot in cotton. Plant Pathol. 49: 2. 171-178.
9. Djonovic, S., Pozo, M.J., Dangott, L.J., Howell, C.R., and Kenerley, C.M. 2006. Sm1, a proteinaceous elicitor secreted by the biocontrol fungus *Trichoderma virens* induces plant defense responses and systemic resistance. Mol. Plant Microbe Interact. 19: 8. 838-853.
10. Dong, Y.J., Wang, Z.L., Zhang, J.W., Liu, S., He, Z.L., and He, M.R. 2015. Interaction effects of nitric oxide and salicylic acid in alleviating salt stress of *Gossypium hirsutum* L. J. Soil Sci. Plant Nut.15: 4. 561-573.
11. El-Tayeb, M.A. 2005. Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regul. 42: 3. 215-224.
12. Esmailzadeh, M., Soleimani, M.J., and Rouhani, H. 2008. Exogenous applications of salicylic acid for inducing systemic acquired resistance against tomato stem canker disease. J. Biol. Sci. 8: 6. 1039-1044.
13. Fallahzadeh, V., and Ahmadzadeh, M. 2009. Induction of systemic resistance to bacterial blight caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*in cotton by fluorescent pseudomonads of cotton rhizosphere. J. Agric. Sci. Tech. 6: 2. 341-348.
14. Goel, N., and Paul, P.K. 2015. Polyphenol oxidase and lysozyme mediate induction of systemic resistance in tomato, when a bioelicitor is used. J. Plant Protec. 55: 4. 343-350.
15. Gunes, A., Inal, A., Alpaslan, M., Cicek, N., Esra, G., Figen, E., and Tutku, G. 2005. Effects of exogenously applied salicylic acid on the induction of multiple stress tolerance and mineral nutrition in maize (*Zea mays* L.). Arch. Agron. Soil Sci. 51: 6. 687-695.

16. Hammerschmidt, R., Nuckles, E., and Kuc, J. 1982. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. Physiol. Plant Pathol. 20: 1. 73-82.
17. Hayat, S., Masood, A., Yusef, M., Fariduddin, Q., and Ahmad, A. 2009. Growth of Indiamusard (*Brassica juncea* L.) in response to salicylic acid under high temperature stress. Braz. J. Plant Physiol. 21: 3. 187-195.
18. Horváth, E., Pál, M., Szalai, G., Paldiand, E., and Janda, T. 2007. Exogenous 4-hydroxybenzoic acid and salicylic acid modulate the effect of short-term drought and freezing stress on wheat plants. Biol. Plantarum. 51: 3. 480-487.
19. Iqbal, M., Ashraf, M., Jamil, A., and Shafiq, U.R.M. 2006. Does seed priming induce changes in the levels of some endogenous plant hormones in hexaploid wheat plant under salt stress? J. Integ. Plant Biol. 48: 2. 181-189.
20. Khosravi, H., Jahani, M., Azad disfani, F., and Mohammadi, A. 2015. Isolation and taxonomical study of *Alternaria alternata* as causal agent of cotton leaf spot in Golestan province. The first international and fourth national conference of medical herbs and stable agriculrure, 14 p.
21. Liu, S., Dong, Y., Xu, L.,Kong, J., and Bai, X. 2013.Roles of exogenous nitric oxide in regulating ionic equilibrium and moderating oxidative stress in cotton seedlings during salt stress. J. Soil Sci. Plant Nutr. 13: 3. 929-941.
22. Malencic, D., Popovic, M., and Miladinovic, J. 2007. Phenolic content and antioxidant properties of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seeds. Molecules. 12: 3. 576-581.
23. Ozyigit I.I. 2008. Phenolic changes during in vitro organogenesis of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) shoot tips. Afr. J. Biotechnol. 7: 8. 1145-1150.
24. Pal, M., Szalai, Z., Horvath, E., Paldi, E., and Janda, T. 2002. Effect of salicylic acid during heavy metals stress. Acta Biol. Szeged. 46: 3-4. 119-120.
25. Park, S.W., Kaimoyo, E., Kumar, D., Mosher, S., and Klessig. D.F. 2007. Methyl salicylate is a critical mobile signal for plant systemic acquired resistance. Science. 318: 5847. 113-116.
26. Pluskota,, W.E., Qu, N., Maitrejean, M., Boland, W., and Baldwin, I.T. 2007. Jasmonates and its mimics differentially elicit systemic defence responses in *Nicotiana attenuate*. J. Exp. Bot. 58: 15-16. 4071-4082.
27. Popham, P.L., and Novacky, A. 1990. Use of dimethylsulfoxide to detect hydroxyl radical during bacteria-induced hypersensitive reaction. Plant Physiol. 96: 4. 1157-1160.
28. Sareena, S., Poovannan, K., and Kumar, K.K. 2006. Biochemical responses in transgenic rice plants expressing a defence gene deployed against the sheath blight pathogen, *Rhizoctonia solani*. Curr. Sci. 91: 3. 1529-1532.
29. Senaratna, T., Touchell, D., Bunn, E., and Dixon, K. 2000. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Plant Growth Regul. 30: 1. 157-161.
30. Sheetal, C., Sunita, J., and Veena, J. 2012. Salinity induced oxidative stress and antioxidant system in salt tolerant and salt-sensitive cultivars of rice (*Oryza sativa* L.). J. Plant Biochem. Biot. 22: 27-34.
31. Singh, B., and Usha, K. 2003. Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedling under water stress. Plant Growth Regul. 39: 1. 137-140.
32. Spletzer, M.E., and Enyedi, A.J. 1999. Salicylic acid induces resistance to *Alternaria solani* in hydroponically grown tomato. Phytopathol. 89: 9. 722-777.
33. Spanic, V., Vuletic, M.V., Hovart, D., Sarkanj, B., Drenzer, G., and Zdunic, Z. 2020. Changes in antioxidant system during grain development of wheat (*Triticum aestivum* L.) and relationship with protein composition under FHB stress. Pathogens. 9: 1. Article 17.

34. Stewart, J. M.D., Oosterhuis, D., and Heitholt, J.J. 2009. Physiology of cotton. Springer Press.
35. Yadav, T., Kumar, A., Yadav, R.K. Yadav, G., and Kumar, R. 2020. Salicylic acid and thiourea mitigate the salinity and drought stress on physiological traits governing yield in pearl millet- wheat. Saudi J. Biol. Sci. 27: 8. 2010-2017.
36. Zheng, X., Koopmann, B., and Tiedemann, A. 2019. Role of salicylic acid and components of the phenylpropanoid pathway in basal and cultivar-related resistance of oilseed rape (*Brassica napus*) to *Verticillium longisporum*. Plants. 8: 11. Article 491.