دو فصلنامه تحقیقات نوین در گیاه‌پزشکی
دانشگاه آزاد اسلامی شیراز
۱۱-۱ : (۱) ۱۲ - ۱۴۰۲

تاثیر تیمار سالیسیلیک اسید بر خسارت ویروس موزائیک معمولی لوبیا در لوبیای رقم اختر

عادله عابدی فیروزجایی، ساسان قاسمی*

گروه بیماری شناسی گیاهی، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران

(*) ssghasemi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۱۲ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۲/۰۴/۲۶

چکیده

ویروس موزاییک لوبیا و نژادهای وابسته به آنها از مهمترین بیماری های ویروسی لوبیا هستند و تقریبا در تمام مناطق کشت لوبیا وجود دارند.به منظور بررسی اثرات تیمار سالیسیلیک اسید بر واکنش رقم حساس لوبیا (اختر) به ویروس موزائیک معمولی لوبیا (BCMV)، آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با ٤ تکرار در شرایط گلخانه اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل غلظت های صفر، ۲۰۰، ٤۰۰ و۸۰۰ میکرومولار سالیسیلیک اسید در نظر گرفته شد. تیمارهای مورد نظر سه روز قبل از مایه زنی با عامل ویروس مربوطه انجام شد. با انجام آزمون سرولوژیکی ELISA با استفاده از آنتی سرم BCMV آلودگی ۸۳/۳ درصد نمونه به این ویروس تائید گردید. نتایج نشان داد سطوح مختلف سالیسیلیک اسید توانستند شدت بیماری را در مقایسه با شاهد آلوده به ویروس کاهش دهند. کمترین شدت بیماری در تیمار کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۸۰۰ میکرومولار (۱۵/۵درصد) بدست آمد. میزان فنل برگ در تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۸۰۰ میکرومولار (۹۲ درصد) بالاترین مقدار را نشان داد که به لحاظ آماری با شاهد آلوده اختلاف آماری معنی داری نشان نداد که این صفت می تواند نشانگر القاء مقاومت با بهبود سطوح فنل در اثر کاربرد سالیسیلیک اسید باشد. سالیسیلیک اسید توانست در بهبود پارامتر های مرفولوژیک مانند وزن تر بخش های هوایی بوته و وزن خشک ریشه موثر باشد و در شرایط بیماری مانع از آسیب های بیشتر در طول دوره ی آزمایشی شود به حدی که این میزان در تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۸۰۰ میکرومولار در شرایط بیماری تفاوت معنی داری با شاهد سالم نشان ندادند.

واژه‌های کلیدی: ویروس موزائیک لوبیا، الیزا، شدت آلودگی، سالیسیلیک اسید، لوبیا.

مقدمه

لوبیا با نام علمی *Phaseolus vulgaris* L. یکی از مهمترین گونه های گیاهی خانواده لوبیاسانان یا لگوم ها Leguminosae و از مهمترین گونه های گیاهی دنیا و کشور ایران است. لوبیا در ایران یکی از مهمترین گونه های گیاهی است و حدود هفتصد و نود هزار هکتار معادل ۲/٦ درصد از سطح گیاهان زراعی را بخود اختصاص می دهد. میزان تولید این محصول در کشور بر حسب آمار و اطلاعات

موجود ۲۰۸ هزار تن گزارش شده است (آمارنامه نامه کشاورزی، ۱۴۰۰-۱۳۹۹). ویروسهای گیاهی از مهمترین عوامل ایجاد خسارت و کاهش میزان محصولات کشاورزی در بسیاری از کشورهای دنیا به شمار می آیند(Drijfhout., 1991). خسارت وارده توسط ویروسهای گیاهی بعد از قارچها در رده دوم اهمیت قرار دارد (Shahraein *et al*., 2001). ویروس موزاییك لوبیا و نژادهای وابسته به آنها از مهمترین بیماری های ویروسی لوبیا هستند و تقریبا در تمام مناطق کشت لوبیا وجود دارند. لوبیا به شدت تحت تاثیر ویروس موزائیك معمولی لوبیا (Bean common mosaic virus) یا به اختصار همان BCMV قرار می گیرد(Shahraein *et al*., 2001).

در گیاهان گیرنده هایی وجود دارند که ملکول های تحریك کننده تولید شده توسط بیمارگرها را دریافت می کنند. بعد از شناسایی مولکول های مذکور توسط میزبان، مجموعه ای از واکنشهای بیوشیمیایی و تغییرات ساختاری در گیاه روی می دهد. با شناسایی تحریك کننده ها، پیام های مولکولی به دسته ای از پروتئین ها و در نهایت به هسته سلول فرستاده می شوند، که موجب بیان ژن های مرتبط با پیام ارسال شده می شوند که می تواند چنین پیام هایی در جهت حساسیت یا مقاومت میزبان در مقابل بیمارگر مهاجم به کار رود (Agrios, 2005). در بین تنظیم کننده های رشد گیاهی، اسید سالیسیلیك یك القا کننده موثر ژن های دخیل در دفاع گیاه و مقاومت اکتسابی فراگیر SAR در گیاهان می باشد. این ماده به عنوان القا گر مقاومت در واکنش دفاعی گیاهان دخیل است. دستکاری اسید سالیسیلیك آزاد فعال موجود در گیاه از طریق آنزیم های فعال کننده آن می تواند به عنوان یك استراتژی مفید برای تقویت گیاه و مقاومت به بیماری به کار رود (Fraissinet-Tachet *et al*., 1998). گزارش های زیادی وجود دارند که حاکی از نقش سالیسیلیك اسید در القای ژن هایی است که پروتئین های مرتبط با بیماریزا PR9 مثل کیتیناز و گلوکاناز را کد می نمایند(Fraissinet-Tachet *et al*., 1998). گزارش های متعددی از کاهش بیماری یا کاهش علائم آن به وسیله تیمار گیاهان با اسید سالیسیلیك و سایر الیستورها توسط برخی از محققان ارائه شده است که به اهمیت این موضوع می افزاید (Jayaraj *et al*., 2008; Mandal *et al*., 2009). کاربرد سالیسیلیك اسید خارجی، رونویسی ژن های اکسیداز متناوب را القا و مسیر متناوب تنفسی را فعال می کند. افزایش در میزان رونوشت های اکسیداز متناوب به طور مثبت با تعداد لکه های واکنش فوق حساسیت مرتبط است. در ویروس موزائیك توتون نسبت RNA ژنومی به RNA پیامبر پروتئین پوششی و نسبت رشته های مثبت RNA به رشته های منفی توسط سالیسیلیك اسید تحت تاثیر قرار گرفتند که نشان می دهد سالیسیلیك اسید فعالیت کمپلکس RNA پلی مراز وابسته به RNA (RdRp) ویروس موزائیك توتون را مختل می کند. به علاوه سالیسیلیك اسید مقاومت به ویروس ها را توسط بازدارندگی زنجیره انتقال تنفسی افزایش می دهد که منجر به افزایش انواع اکسیژن فعال میتوکندری می شود (Loebenstein and Carr., 2006) . در آزمایشی مشخص گردید سالیسیلیك اسید می تواند فرآیند همانند سازی ویروس موزائیك یونجه (Alfalfa mosaic virus) را در پروتوپلاست لوبیا چشم بلبلی ممانعت کرده و باعث اختلال همانندسازی ویروس موزائیك توتون (Tobacco mosaic virus) و ویروس ایکس سیب زمینی (Potato virus x) در توتون شود (Murphy *et al*., 1999) . تیمار سالیسیلیك اسید از ورود ویروس موزائیك خیار (Cucumber mosaic virus) به آوند آبکشی جلوگیری می کند. البته قابل ذکر است که در میان ویروس ها ممکن است درجات متفاوتی از حساسیت به اثرات سالیسیلیك اسید وجود داشته باشد. برای مثال آلودگی ویروس وای سیب زمینی (Potato virus Y) در توتون توسط کاربرد سالیسیلیك اسید تحت تاثیر قرار نمی گیرد (Pennazio *et al*., 1985) . عواملی مانند نوع بیمارگر و پاتوتیپ آن، گونه گیاهی میزبان و رقم آن و ساختار گیاهی مورد حمله بیمارگر ممکن است کارایی روش های غیر شیمیایی مثل القای مقاومت را در کنترل بیمارگر تحت تاثیر قرار دهد (Elad and Freemen., 2002). Esmailzadeh *et al*. (2009) در تحقیقی که به منظور بررسی امکان القای مقاومت اکتسابی در گوجه فرنگی علیه بیماری شانکر با کاربرد سالیسیلیك اسید و برخی مشتقات آن انجام دادند دریافتند که استفاده از سالیسیلیك اسید، ٤ کلروسالیسیلیك اسید و ۵ متوکسی -سالیسیلیك اسید در غلظت ٤۰۰ میکرومول شاخص بیماری را به طور معنی داری نسبت به شاهد آلوده کاهش داد. Veladi *et al*. (2013) در تحقیقی به منظور مطالعه تاثیر سالیسیلیك اسید و کیتوزان بر القای مقاومت در نخود علیه بیماری های

پژمردگی و پوسیدگی فوزاریومی بیان داشتند که غلظت ٤٠٠ میکرومولار سالیسیلیك اسید در کاهش جزئی علائم پژمردگی موثر بود اما سایر غلظت های آن تاثیری در کاهش شدت پوسیدگی ریشه ایجاد نکرد .

در پژوهش حاضر سعی شده است اثر سالیسیلیک اسید بر آلودگی ویروس موزائیک لوبیا با توجه به اهداف زیر مورد ارزیابی قرار گیرد: الف) القای مقاومت در گیاهان حساس به ویروس در لوبیا از طریق سالیسیلیك اسید، ب) انتخاب و تعیین بهترین غلظت سالیسیلیك اسید در جهت القای مقاومت.

مواد و روش‌ها

*انتخاب رقم:

جهت انجام این تحقیق از رقم اختر استفاده شد. رقم اختر به عنوان یکی از ارقام حساس لوبیا به ویروس موزائیک معمولی لوبیا (BCMV) شناخته شده است. منشأ این رقم کشور کلمبیا و کلاس تجارتی آنLight Red Kidney می‌باشد. این رقم از نظر خصوصیات مورفولوژیکی و زراعی شباهت زیادی به رقم درخشان دارد. نام پدیگری آنKID-31 و همانند درخشان در ایران خالص سازی شده است. فرم بوته ایستاده و رشد محدود (تیپ ۱)، متوسط ارتفاع ٤٠ سانتی‌متر، دوره رشد و نمو ۱۰۰-۹۵ روز، وزن صد دانه ٤٧-٤٥ گرم. این رقم نسبت به بیماری BCMV در شرایط گلخانه‌ای حساس و نسبت به BYMV نیمه حساس و به CMV مقاوم است.

* کشت گلدانی بذور:

آزمایش گلخانه ای در شرایط دمایی و رطوبتی مناسب و با ساعت نوری و تاریکی مشخص انجام شد. جهت استریل کردن خاک گلدانها، پس از سرند کردن، خاکها به مدت دو ساعت در حرارت ٦٥ - ٧٠ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و گلدانهای پلاستیکی که با محلول هیپوکلرید سدیم ۱ % ضدعفونی و با خاک استریل شده شدند. سپس بذور تهیه شده از دانشگاه ولیعصر رفسنجان (عج) درون گلدانهای پلاستیکی حاوی خاک سترون شده کشت و در شرایط کنترل شده در گلخانه تا مرحله رشدی مناسب نگهداری شدند.

* مایه زنی بوته های لوبیا با ویروسBCMV:

جهت تهیه اینوکولوم عامل بیماری، برگ های آلوده جوان با علائم موزاییك معمولی لوبیا تحت شرایط مزرعه جمع آوری شده و با مقداری خاک مخلوط و پس از اضافه کردن بافر فسفات ۰/۱ مولار (به نسبت ۱ به ۱ وزنی حجمی) از صافی گذرانده و محلول حاصل به مدت ٥ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی حاصل از سانتریفیوژ به عنوان تلقیح استاندارد (SI) مورد استفاده قرار گرفت. برگهای گیاهان ابتدا با کاربوراندوم آغشته سازی شده و تلقیح مکانیکی گیاهان با استفاده از SI و پودر سلیت از طریق مالش آرام دست (انگشت سبابه) آغشته شده به ویروس (٢٤ ساعت پس از تیمار با سالیسیلیك اسید) انجام گرفت (Verma & Gupta, 2010). تمام تیمارها به صورت چهار گلدان حاوی دو گیاه درون هر گلدان و بر اساس طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با چهار تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت.

* اعمال تیمار ها:

اعمال تیمار سالیسیلیک اسید در مرحله سه برگی و ٢٤ ساعت قبل از به کار گیری ویروس، بوسیله غلظت های صفر، ۲۰۰، ٤٠٠ و ۸۰۰ میکرومولار سالیسیلیك اسید به انجام رسید و به مدت ٤٨ ساعت در شرایط مناسب رطوبتی و دمایی قرار داده شدند. جهت جذب بهتر محلول سالیسیلیك اسید توسط برگ های گیاه، به هر یك از غلظت های تهیه شده سالیسیلك اسید دو قطره توئین بیست (Tween 20) افزوده شد. جهت اسپری غلظت های مختلف سالیسلیك روی گیاهان از میکرو اسپری دستی بطور مجزا استفاده شد.

*** خصوصیات مورد ارزیابی:**

- تشخیص BCMV از طریق تکنیک الیزا:

از کیت الیزا (آماده شده برای استفاده) جهت اندازه گیری مقدار و یا غلظت BCMV در برگ های آلوده استفاده شد (Clark and Adams, 1977).

- شدت آلودگی:

شدت آلودگی ۳ هفته پس از مایه زنی با استفاده از مقیاس رتبه بندی بررسی شد(Yang *et al*., 1996) . بر حسب شدت علائم تقسیم بندی ذیل صورت پذیرفت:

نمره صفر (۰): عدم وجود علائم آلودگی، نمره (۱) زخم‌های موضعی و موزاییک خفیف، نمره (۲) موزاییک شدید، نمره (۳) ایجاد اشکال ناهنجار (بدشکلی). شدت بیماری (DS) نیز از طریق رابطه زیر تعیین شد (Yang *et al*., 1996):

$$DS(\%) = \frac{\sum(\text{disease grade} \times \text{number of plants in each grade})}{(\text{total number of plants} \times \text{highest disease grade})} \times 100$$

- اندازه گیری ترکیبات فنولی:

به منظور اندازه گیری ترکیبات فنولی، مقدار نیم گرم برگ تازه داخل هاون چینی ریخته و پس از اضافه کردن ۵ میلی لیتر متانول، با استفاده از نیتروژن مایع به صورت کامل له شدند. پس از تهیه یك محلول یکنواخت، عصاره حاصل در دور ۴۰۰۰ به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ شده و از محلول رویی برای اندازه گیری محتوای فنول کل استفاده شد. به یك میلی لیتر از عصاره بدست آمده پنج میلی لیتر از آب مقطر، ۲۵۰ میکرولیتر معرف فولین، یکی میلی لیتر محلول کربنات سدیم اشباع و یك میلی لیتر آب مقطر اضافه شد .پس از یك ساعت نگهداری در دمای اتاق مقدار جذب نور با طول موج ۷۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد (Malick & Sing, 1980).

*** ارزیابی صفات مرفولوژیکی:**

- اندازه گیری وزن تر بوته:

بوته ها بعد از اندازه گیری طول بوته از سطح خاک جدا و در کیسه پلاستیک قرار داده شدند و سپس به منظور جلوگیری از تبخیر به وسیله یونولیت حاوی پودر یخ به آزمایشگاه جهت اندازه گیری منتقل شدند و به وسیله ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱گرم وزن تر اندام هوایی بر حسب گرم ثبت شد.

- اندازه گیری وزن تر اندام هوایی:

پس از وزن کردن بوته ها، آنها در پاکتهای کاغذی گذاشته و به درون آون ۷۰ درجه سلسیوس ، به مدت ٤٨ ساعت منتقل گردید، سپس به وسیله ترازو وزن شد.

- اندازه گیری وزن تر و خشک ریشه:

به منظور اندازه گیری وزن تر ریشه، ریشه ها را از خاک جدا کرده در ظرف حاوی آب به آرامی شستشو تا ریشه ها کاملا تمیز، سپس به وسیله کاغذ صافی کاملا خشک شده و در کیسه پلاستیک و به آزمایشگاه منتقل شدند. وزن تر ریشه به وسیله ترازو اندازه گیری و

بر حسب گرم ثبت شد. برای ارزیآبی وزن خشک ریشه نمونه های استحصال شده در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس، به مدت ٤٨ ساعت قرار داده شدند و سپس به وسیله ترازو توزین شدند.

* تجزیه و تحلیل آماری:

در این مطالعه از طرح آماری کاملا تصادفی با چهار تکرار در شرایط گلخانه استفاده شد. آنالیز واریانس دادهها ANOVA با استفاده از نرم افزار SAS ورژن ۹/۳ انجام گرفت. نتایج بدست آمده و در قالب طرح آماری کاملا تصادفی آنالیز شد. میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح (۱ و ۵٪) مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج

* ارزیابی بوته های آلوده بر مبنای صفات ظاهری بارز:

نتایج بدست آمده بر اساس ارزیابی مرفولوژیکی و ظاهری بوته های آلوده شده به عامل ویروسی BCMV نشان داد که ۷۵ درصد از بوته های آلوده شده صفات مرفولوژیکی بارز و قابل تشخیص شامل موزائیک، پیچیدگی، باریک شدگی و نواری شدن برگها را به صورت برشاخص و برجسته نشان دادند (جدول ۱).

جدول ۱- تعداد و درصد بوته های آلوده لوبیای رقم اختر به ویروس BCMV بر اساس صفات ظاهری و مرفولوژیکی

Table 1. Number and percentage of Akhtar bean plants infected with BCMV virus based on appearance characteristics

No. Plants	No. plants inoculated with the virus	No. control plants	No. infected plants based on appearance characteristics	percentage of infected plants
32	24	8	18	75%

* ارزیابی بوته های آلوده بر مبنای صفات ظاهری بارز:

نتایج تست سرولوژیکی آلودگی نمونه های گیاهی اخذ شده از لوبیای رقم اختر در جدول ۲ گزارش شده است. بر اساس نتایج بدست آمده از تعداد ٢٤ بوته ی تلقیح شده با ویروس BCMV تعداد ۲۰ مورد آلودگی به ویروس فوق مورد تایید قرار گرفت. بر اساس نتایج بدست آمده از تست سرولوژیکی درصد بوته های آلوده ۸۳/۳ درصد بدست آمد.

جدول ۲- تعداد و درصد بوته های آلوده لوبیای رقم اختر به ویروس BCMV

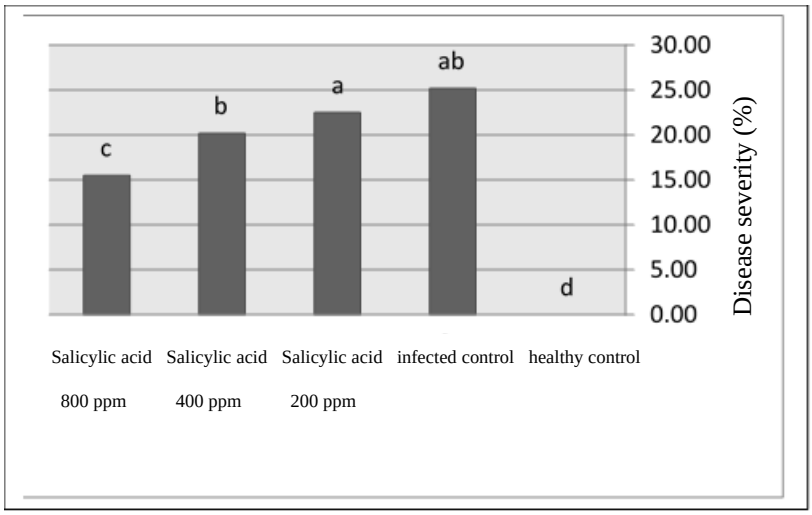
Table 2. Number and percentage of Akhtar bean plants infected with BCMV virus

No. Plants	No. plants inoculated with the virus	No. control plants	No. infected plants based on ELISA	percentage of infected plants
32	24	8	20	83.3%

* اثرات غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید بر شاخص شدت بیماری بوته های لوبیا تلقیح شده با ویروس BCMV:

شدت بیماری در تیمار شاهد سالم برابر با صفر و در تیمار شاهد آلوده (مایه زنی نشده با اسیدسالیسیلیک اما در معرض عامل ویروس) بیشترین میزان خود (۲۵/۲ درصد) را نشان داد (نمودار٤-۱). با توجه به نتایج به دست آمده با افزایش غلظت اسید

سالیسیلیک از ۲۰۰ میکرومولار به ۸۰۰ میکرومولار، شدت بیماری به طور معنی داری کاهش پیدا کرد به طوری که کمترین شدت بیماری در تیمار کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۸۰۰ میکرومولار (۱۵/۵ درصد) بدست آمد که به لحاظ آماری با غلظت ۴۰۰ میکرومولار تفاوت آماری معنی داری نشان داد. بر حسب نتایج بدست آمده تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۲۰۰ میکرومولار با تیمار شاهد آلوده تفاوت آماری معنی داری نشان نداد (شکل ۱).



شکل ۱- مقایسه ی میانگین اثر غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید بر شاخص شدت بیماری بوته های تلقیح شده با ویروس BCMV (حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف آماری معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد).

Figure 1. Mean comparison of effect of different concentrations of salicylic acid on the disease severity index of plants inoculated with BCMV (columns with the same letters do not differ significantly (P<0.01))

* اثرات غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید بر فنل برگ بوته های تلقیح شده با ویروس BCMV:

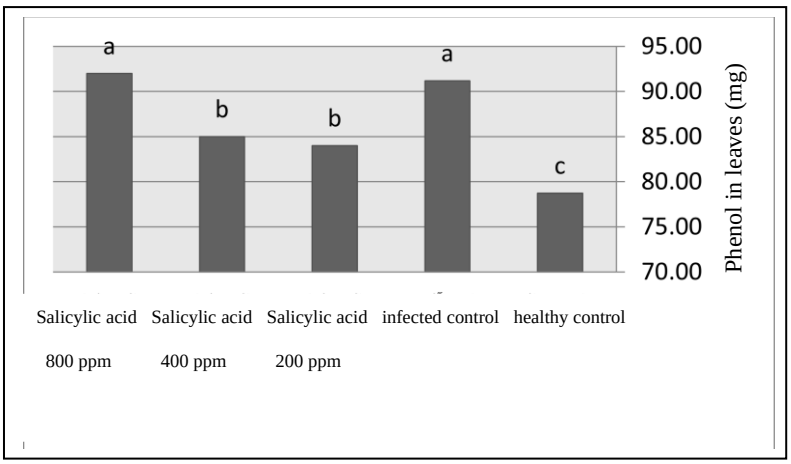
میزان فنل برگ در تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۸۰۰ میکرومولار (۹۲ درصد) و بالاترین مقدار را نشان داد که به لحاظ آماری با شاهد آلوده اختلاف آماری معنی داری نشان نداد. میزان فنل برگ در این رقم لوبیا در تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۲۰۰ میکرومولار و ۴۰۰ میکرومولار نسبت به شاهد آلوده به طور معنی داری کمتر بود اما با یکدیگر اختلاف آماری معنی داری نشان ندادند (شکل ۲).

* اثرات غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید بر وزن تر کل بوته های تلقیح شده با ویروس BCMV:

وزن تر بوته در تیمار شاهد سالم بیشترین میزان و در شاهد الوده به صورت معنی داری کاهش یافته است (شکل ۳). در تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۸۰۰ میکرومولار این میزان (۳۹ گرم) بوده است که با شاهد سالم تفاوت معنی داری نشان نمی دهد. یعنی این تیمار با این غلظت به خوبی توانسته در بهبود صفات رشدی بوته در شرایط بیماری موثر باشد.

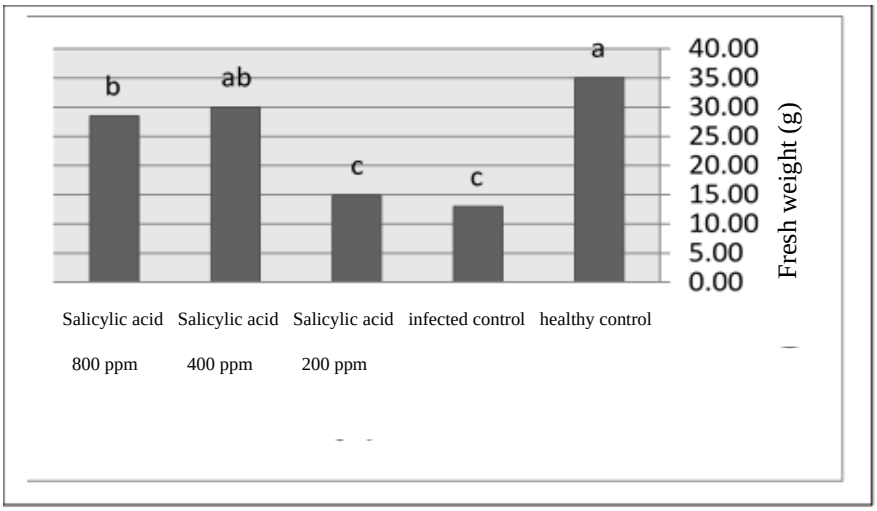
* اثرات غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید بر وزن خشک ریشه گیاهان تلقیح شده با ویروس BCMV:

وزن خشک ریشه در تیمار شاهد سالم بیشترین میزان را نشان می دهد که به لحاظ آماری با تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار تفاوت معنی داری نشان نداده است. این صفت در شاهد آلوده به صورت معنی داری کاهش یافته است (شکل ٤).



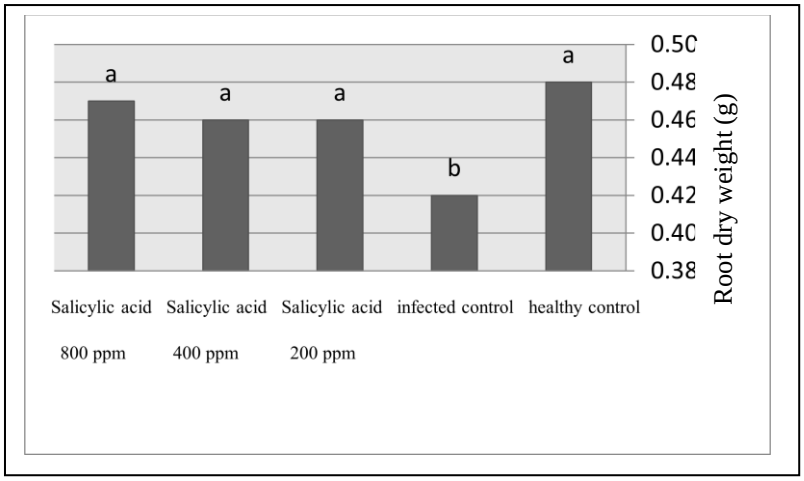
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید بر میزان فنل برگ بوته های تلقیح شده با ویروس BCMV (حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف آماری معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد).

Figure 2. Mean comparison of effect of different concentrations of salicylic acid on the amount of phenol in leaves of plants inoculated with BCMV (columns with the same letters do not differ significantly (P<0.01))



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید بر وزن تر بوته های تلقیح شده با ویروس BCMV (حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف آماری معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد).

Figure 3. Mean comparison of effect of different concentrations of salicylic acid on fresh weight of plants inoculated with BCMV (columns with the same letters do not differ significantly (P<0.01))



شکل ٤- مقایسه میانگین اثر غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید بر وزن خشک ریشه بوته های تلقیح شده با ویروس BCMV (حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف آماری معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد).

Figure 4. Mean comparison of effect of different concentrations of salicylic acid on root dry weight of plants inoculated with BCMV (columns with the same letters do not differ significantly (P<0.01))

بحث

در این پژوهش القای مقاومت رقم حساس لوبیای اختر در برابر بیماری ویروس موزائیك معمولی لوبیا تحت تاثیر غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید مورد بررسی قرار گرفت. نتایج پژوهش حاضر نشان داد کاربرد سالیسیلیک اسید با دوز ٤٠٠ و ٨٠٠ میکرومولار با افزایش میزان فنل کل می تواند مقاومت بیشتری را القاء نماید. نتایج آزمایشات قبل نشان داد سالیسیلیك اسید می تواند با افزایش فعالیت میتوکندریایی، فرآیند همانند سازی ویروس موزائیك یونجه را در پروتوپلاست لوبیا چشم بلبلی ممانعت کرده و باعث اختلال همانندسازی ویروس موزائیك توتون Tobacco mosaic virus و ویروس ایکس سیب زمینی Potato virus x در توتون شود (Murphy *et al*., 1999) که با خواص کنترل کننده ی اسید سالیسالیک بر ویروس موزائیک معمولی لوبیا در پژوهش حاضر دارای همخوانی است. در آزمایشی Raju *et al*. (2008) ظهور علائم بیماری بلاست در گیاهچه های برنج را ناشی از کافی نبودن میزان مقاومت القا شده با غلظت های به کار رفته الیستورها می دانند. همچنین نتایج پژوهش های گذشته بیانگر این واقعیت بوده است که الیستورهای مختلف باعث تحریك پاسخ های دفاعی گیاهان و در نتیجه کاهش علائم بیماری در پاتوسیستم های مختلف شده است. ترکیبات فنل از جمله مهمترین مواد موثر در مقاومت گیاهان در مقابل عوامل بیماریزا می باشد. اولین بار فرضیه ی ترکیبات فنلی را برای توجیه مقاومت در برابر بیماریها در سال ۱۹۲٦ پیشنهاد شد. و تاکنون وجود بسیاری از ترکیبات فنلی از جمله کتکول، رزورسینول، گالیک اسید، پروتوکاتشیک اسید، اسید کلروژنیک و یا افزایش سنتز آنها در مقاومت گیاهان در برابر بسیاری از عوامل بیماریزا به اثبات رسیده است. Simons & Ross (1971) میزان ترکیبات فنلی اورتو دی هیدروکسی فنل ها و اسید کلروژنیک و فنل کل را در برگهای توتون بعد از مایه کوبی با TMV اندازه گیری کردند. آنها نشان دادند که تجمع مواد فنلی در محل مایه کوبی صورت می گیرد ولی به دیگر قسمت های گیاه به ویژه برگ های بالاتر از محل مایه کوبی انتقال نمی یابند. با بررسیهای هیستوشیمیایی و سیتوشیمیایی ترکیبات فنلی ریشه ی موز در آلودگی با نماتد *Rhadopholus similes* نشان داده شد که در این میزبان علاوه بر دیگر

پاسخ های سلولی و بافتی، تجمع مواد فنلی در سلول ها نقش مهمی در دفاع گیاه دارد. آنها همچنین نشان دادند که ترکیبات فلاونوئیدی و استرهای کافئیک در پارانشیم و بافت آوندی و فرولیک اسید در دیواره ی سلولی و دوپامین به مقدار زیادی در ریشه کولتیوار های مقاوم تجمع می یابد.

سطوح مختلف سالیسیلیک اسید توانستند شدت بیماری را در مقایسه با شاهد آلوده به قارچ کاهش دهند. کمترین شدت بیماری در تیمار کاربرد اسید سالیسیلیک با غلظت ۸۰۰ میکرومولار (۱۵/۵درصد) بدست آمد. تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۲۰۰ میکرومولار با تیمار شاهد آلوده تفاوت آماری معنی داری نشان نداد که موید آن بود این سطح از غلظت اسید سالیسالیک کارایی کافی در مورد کنترل شدت بیماری را نداشت. میزان فنل برگ در تیمار اسید سالیسیلیک با غلظت ۸۰۰ میکرومولار (۹۲ درصد) و بالاترین مقدار را نشان داد که به لحاظ آماری با شاهد آلوده اختلاف آماری معنی داری نشان نداد که این صفت می تواند نشانگر القاء مقاومت با بهبود سطوح فنل در اثر کاربرد سالیسیلیک اسید باشد که با افزایش غلظت این ترکیب افزایش پیدا کرد. سالیسیلیک اسید توانست در بهبود پارامتر های مرفولوژیک مانند وزن تر بخش های هوایی و بوته، و وزن خشک ریشه موثر باشد و در شرایط بیماری مانع از آسیب های بیشتر در طول دوره ی آزمایشی شود.

منابع

Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*. 5th edition. Elsevier-Academic Press, San Diego, CA. U.S.A.

Clark, M.E. & Adams, A. N. 1977. Characteristics of microplate methods of enzyme linked immunosorbent assay for detection of plant viruses. *Journal of General Virology*, 34: 475–83.

Drijfhout, E. 1991. *Compendium of Bean Diseases*. APS Press, USA.

Elad, Y. & Freeman, S. 2002. Biological control of fungal plant pathogens. pp. 93–109, In: Kempken, F. (ed) *The Mycota, A Comprehensive Treatise on Fungi as Experimental Systems for Basic and Applied Research.* XI. Agricultural Applications. Springer, Heidelberg, Germany.

Esmailzadeh, M., Soleimani, M. J. & Rouhani, H. 2009. A study on possible effect of using salicylic acid and some of its derivatives for inducing host resistance against tomato stem canker disease. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, 23 (2): 35-41.

Fraissinet-Tachet, L., Baltz, R., Chong, J., Kauffmann, S., Fritig, B. & Saindrenam, P. 1998. Two tobacco genes induced by infection, elicitor and salicylic acid encode glucosyltransferase acting on phenylpropanoids and benzoic acid derivatives, including salicylic acid. *FEBS Letters*, 437:319-323.

Jayaraj, J., Wan, A., Rahman, M. & Punja, Z.K. 2008. Seaweed extract reduces foliar fungal diseases on carrot. *Crop Protection*, 27 (10): 1360-1366.

Loebenstein, G. & Carr, J.P. 2006. *Natural Resistance Mechanisms of Plants to Viruses*. Springer publishers, Netherland.

Malick, C. P. & Singh, M. B. 1980. *Plant Enzymology and Histo- Enzymology*. Kalyani Publisher, New Delhi, India.

Mandal, S., Mallick, N. & Mitra, A. 2009. Salicylic Acid-induced Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in Tomato. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47: 642-649.

Métraux, J. P., Signer, H., Ryals, J., Ward, E., Wyss-Benz, M., Gaudin, J., Raschdorf, K., Schmid, E., Blum, W. & Inverardi, B. 1990. Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. *Science*, 250: 1004–1006.

Murphy, A.M., Chivasa, S., Singh, D.P. & Carr, J. P. 1999. Salicylic acid-induced resistance to viruses and other pathogens: a parting of the ways? *Trends in Plant Science*, 4: 155- 160.

Pennazio, S., Roggero, P. & Gentile, I. A. 1985. Effects of salicylate on virus-infected tobacco plants. *Phytopathology*, 114, 203–213.

Raju, K. V., Aziz, A., Sundaram, M.S.S., Sekher, M., Wani, S.P. & Sreedevi, T. K. 2008. *Guildelines for Planning and Implementation of Watershed Development Program in India: A Review*. Global Theme on Agroecosystems Report 48. Andhra Pradesh, India, International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics.

Seevers, D. M., Daly, J. M. & Catedral, F. S. 1971. The role of peroxidase isozyme in resistance to wheat stem rust disease. *Plant Physiology*, 48: 353-360.

Shahraein, N., Hasani Mehraban, A., Poordavaei, H., Beyzaei, E., Mostaed, M., Bananaj, K. 2001. Determination of genetically sources of resistance to three importance common bean viruses CMV, BYMV and BCMV. Final Research Report, Agricultural Research, Education and Extension organization, Iran.

Simons, T.J. & Ross, A.F., 1971. Changes in phenol metabolism associated with induced systemic resistance to tobacco mosaic virus in Tobacco. *Phytopathology*, 61: 1261-1265.

Veladi, S., Soleimani, M. J., Khodakaramian, Gh. & Ghiasvand, T. 2013. Effect of salicylic acid and chitosan on induction of resistance in chickpea against fusarial wilt and root rot. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 49 (2): 181-199.

Verma, P. &·Gupta, U. P. 2010. Immunological detection of bean common mosaic virus in French bean (*Phaseolus vulgaris* L.) leaves. Indian Journal of Microbiology, 50:263–265.

Yang, X., Liangyi, K. & Tien, P. 1996. Resistance of tomato infected with cucumber mosaic virus satellite RNA to potato spindle tuber viroid. *Annals of Applied Biology*, 129: 543–51.

Journal of Novel Researches on Plant Protection
(Islamic Azad University, Shiraz Branch)
2023 – **12** (**1**): 1 - 11

Effect of salicylic acid treatment on damage of common bean mosaic virus in Akhtar variety bean

Adeleh Abedi Firoozjaei, Sasan Ghasemi*
Department of Plant Pathology, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

(*) ssghasemi@yahoo.com

Abstract
Bean common mosaic virus and related races are one of the most important bean viral diseases and are present in almost all bean growing regions. In order to investigate the effects of salicylic acid treatment on the reaction of sensitive bean variety (Akhtar) to common bean mosaic virus (BCMV), an experiment was conducted in the form of a completely randomized design with 4 replications in greenhouse conditions. The experimental treatments included concentrations of zero, 200, 400 and 800 micromolar salicylic acid. The desired treatments were performed three days before inoculation with the respective virus agent. ELISA test using BCMV antiserum showed 83.3% of samples were infected with this virus. The results showed that different levels of salicylic acid could reduce the severity of the disease compared to the control infected with the virus. The lowest severity of the disease was obtained in the treatment of salicylic acid with a concentration of 800 micromolar (15.5%). The amount of phenol in the leaves in the treatment of salicylic acid with a concentration of 800 micromolar showed the highest value (92%), which did not show a statistically significant difference with the infected control, and this trait can be an indicator of the induction of resistance with the improvement of phenol levels due to the use of salicylic acid. Salicylic acid was effective in improving the morphological parameters such as the wet weight of the aerial parts of the plant and the dry weight of the root, and in disease conditions it prevented further damage during the experimental period to such an extent that this amount in the treatment of salicylic acid with a concentration of 800 µM in the conditions of the disease did not show any significant difference with the healthy control.

Keywords: BCMV, ELISA, Disease severity, Salicylic acid, Bean.