دوفصلنامه تحقیقات بیماری‌های گیاهی
سال چهارم ، شماره دوم، پاییز و زمستان 1395
صص 74-59

اثر سالیسیلیک اسید بر روی کاهش خسارت ناشی از ویروس X در سیب زمینی

محمد رضا هادی*[1]، سید محمد رضا موسوی[2]

تاریخ دریافت: 94/10/17 تاریخ پذیرش:95/3/22

چکیده

در این تحقیق اثر سالیسیلیک اسید به منظور کاهش بیماری‌زایی ویروس X سیب زمینی (PVX) بر روی پارامترهای رشد از جمله میزان کلروفیل، سطح برگ، فاصله میانگره، تعداد برگ، طول ساقه، تعداد غده و وزن غده در دو رقم سیب زمینی (آگریا و مارفونا) در شرایط گلخانه‌ای بررسی گردید. گیاهچه‌هائی که عاری از عوامل بیماریزا بودند تکثیر شده و گیاهچه‌های رشد کرده به گلدان‌ها با خاک مناسب و استریل منتقل گردیدند. گیاهچه‌ها با غلظت‌های صفر (شاهد)، 0/2، 0/5، 1 و 2 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید مورد تیمار قرار گرفتند. عصاره فعال برگ توتون رقم تامسون آلوده به PVX برای آلوده سازی گیاهان سیب زمینی به کار رفت. نتایج نشان داد که علائم آلودگی PVX بر روی برگ‌های گیاهان آلوده نسبت به گیاهان شاهد در دو رقم آگریا و مارفونا خیلی مشهود نبود ولی بر روی برگ گیاهان توتون آلوده با پیچش برگ آن شناخته می‌شد. میزان سالیسیلیک اسید درگیاهان آلوده تقریباً دو برابر گیاهان سالم بود. همچنین نتایج نشان داد که تیمار سالسیلیک اسید با غلظت 0/2 تا 0/5 میلی‌مولار باعث کاهش 27/25 درصد خسارات ناشی از PVX می‌گردد. علاوه براین به نظر می‌رسد که رقم مارفونا نسبت به رقم آگریا در برابر PVX مقاومت بیشتری دارد.

واژه‌های کلیدی: سیب زمینی، سالیسیلیک اسید، PVX.

[1]- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران.
[2]- استادیار، گروه بیماری شناسی گیاهی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، ایران.
*- نویسنده مسئول مقاله: hadi_mohammadreza@yahoo.com

مقدمه

گیاه سیب زمینی با نام علمی *Solanum tuberosum* چهارمین محصول کشاورزی و پر اهمیت جهان است به طوری که بعد از برنج، گندم و ذرت پرمصرف‌ترین ماده‌ی غذائی نزد مردم دنیا است (Mohtadinia and Mohammadrezaie, 1995). ویروس‌ها یکی از مهم‌ترین گروه عوامل بیماریزای گیاهان را تشکیل می‌دهند (Kl-Valkama *et al.*, 1998) و هرساله مزارع مختلف را مورد حمله قرار می‌دهند و خسارات جبران‌ناپذیری به این مزارع و در نهایت اقتصاد کشور وارد می‌نمایند. یکی از مهم‌ترین معضلات موجود در این رابطه بیماری‌های ویروسی بالاخص PVX می‌باشد (Jellis, 1992). این ویروس از خانواده‌ی Alphaflexiviridae و جنس *Potexvirus* می‌باشد (King *et al.*, 2012). PVX بسته به نژاد و رقم سیب زمینی مورد استفاده و وجود یا عدم وجود یک ویروس مخفی به همراه PVX سبب وارد آمدن خسارتی معادل 5 تا 75 درصد در محصول می‌شود (Stevenson *et al.*, 2001) و تقریباً در 20% از نمونه‌های گرفته شده از مزارع سیب‌زمینی کشور ایران مشاهده شده است (Pourrahim *et al.*, 2007). از اینرو یکی از بیماری‌های مهم سیب زمینی در ایران، بیماری ویروسی PVX می‌باشد (Peyman *et al.*, 2004). یکی از مهم‌ترین راهکارهای مبارزه با ویروس‌های گیاهی استفاده از واریته‌های مقاوم و یا بهبود مقاومت واریته‌های موجود با استفاده از روش‌های مختلف از جمله کاربرد مواد موثر در ایجاد مقاومت مانند سالیسیلیک اسید و مشتقات آن به صورت پاشیدن بر روی گیاه می‌باشد. مشخص‌شده که سالیسیلیک اسید در ایجاد مقاومت اکتسابی سیستمیک نقش اساسی را بازی می‌کند و باعث ایجاد مقاومت به دامنه‌ی نسبتاً وسیعی از عوامل بیماریزای گیاهی از جمله ویروس‌ها، قارچ‌ها و باکتری‌ها می‌شود (Nie, 2006). اثر اسید سالیسیلیک بر روی کاهش بیماریزائی قارچی در گیاه سیب زمینی مطالعه شده است، به طوری که هادی و همکاران (Hadi *et al.*, 2008) و همچنین هادی و بلالی (Hadi and Balali, 2010) گزارش کرده‌اند که سالسیلیک اسید باعث کاهش خسارات ناشی از قارچ رایزوکتونیا سولانی (*Rizoctonia solani*) بر روی غده‌های سیب‌زمینی می‌شود و میزان علائم آلودگی بیماری لکه سیاه بر روی غده‌های سیب‌زمینی (Black scurf) را به میزان 72 درصد کاهش می‌دهد. با این حال در رابطه با اثرات سالیسیلیک اسید در القاء مقاومت به ویروس‌ها در گیاه سیب زمینی (PVY و PVX) گزارشات کمی وجود دارد به طوری که هادی و همکاران (Hadi *et al*., 2014) گزارش کرده‌اند که اسید سالیسیلیک حداقل به میزان 26 درصد از کاهش رشد گیاهان سیب زمینی آلوده با PVY جلوگیری می‌نماید. هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر سالیسیلیک اسید در گیاه سیب زمینی به منظور کاهش خسارت ناشی از PVX است.

مواد و روش‌ها

شرایط رشد

ابتدا 20 عدد گیاهچه عاری از هر گونه آلودگی به بیماری از دو رقم سیب زمینی (*Solanum tuberosum*) مارفونا (Marfona) و آگریا (Agria) از گروه پژوهشی سیب زمینی دانشگاه اصفهان تهیه گردید و در شرایط استریل از طریق کشت بافت، تکثیر و در اطاقک رشد با شرایط دمای3 ± 24 سانتیگراد، شدت نور 55/6 میکرو مول بر متر مربع بر ثانیه و تناوب نوری 16 ساعت نور و 8 ساعت تاریکی برای رشد قرار داده شدند. پس از تکثیر گیاهچه‌های

سالم به اندازه کافی (200 عدد)، گیاهچه‌های رشد کرده به گلدان سفالی (به حجم 3 لیتری) منتقل شدند (یک گیاهچه در یک گلدان) (Balali *et al.*, 2008). خاک گلدان‌ها با ترکیب مناسب (دو قسمت رسی شنی و یک قسمت خاک برگ) پس از استریل شدن استفاده شد. گیاهچه‌ها در شرایط گلخانه با دمای 3 ± 23 سانتی‌گراد در روز و 3 ± 16 سانتی‌گراد در شب تحت نور طبیعی قرار داده شدند و هر 2-3 روز آبیاری شدند. پس از چهار هفته از تاریخ کاشت، گلدان‌ها با ppm 250 محلول N:P:K به نسبت 20:20:20 کود دهی گردید. برای اطمینان از آلوده نشدن توسط شته‌ها، گیاهان در قفس‌های توری قرار داده شدند.

منبع ویروس X سیب زمینی

ویروس‌های خالص PVX مطابق روش کراسلین و همکاران (Crosslin *et al.*, 2005) با اندکی تغییر (Hadi *et al.*, 2014) ابتدا در گیاه توتون رقم سامسون (*Nicotiana tabacum* cv. Samson) تکثیر و فعال گردید، سپس از عصاره برگ‌های جوان آلوده گیاه توتون برای آلوده سازی برگ‌های گیاه سیب زمینی استفاده گردید.

طرح آزمایش

پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی 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 با دو سطح: گیاهان سالم وگیاهان آلوده به PVX بود. عامل سوم، تیمار سالیسیلیک اسید با پنج سطح یا غلظت بود.

تیمار سالسیلیک اسید

دو هفته پس از سازگاری گیاهچه‌ها در گلخانه، گیاهان در مرحله 7-8 برگی با غلظت‌های صفر (شاهد یا کنترل)، 0/2، 0/5، 1 و 2 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید (C7H6O3, M=138.12) شرکت Merck با کد CB1680010 تیمار شدند. تیمارها هر هفته (مجموعاً چهار هفته) روی برگ‌های گیاهان به میزان 10 میلی‌لیتر در یک گلدان افشانه شد.

مایه زنی ویروس

مایه زنی ویروس گیاهان سالم سیب زمینی با عصاره برگ جوان توتون حاوی PVX بعد از آخرین تیمار سالیسیلیک اسید مطابق با روش زیر انجام گرفت. یک گرم از بافت برگ آلوده با دو میلی‌لیتر بافر فسفات (pH=7) عصاره‌گیری گردید و عصاره ویروسی مذکور برای آلوده کردن گیاهان سالم استفاده گردید.

تعیین علائم ویروسی و اندازه گیری پارامترهای رشد

علائم PVX در تمام گیاهان مورد آزمایش بررسی و مقایسه شد. همچنین سطح برگ، مقدار کلروفیلa، مقدار کلروفیل b، کلروفیل کل، فاصله میانگره، تعداد برگ، طول ساقه، تعداد غده و وزن غده در گیاهان به عنوان شاخص‌های رشد اندازه‌گیری گردید. برای اندازه گیری سطح برگ از هر بوته بزرگترین برگ انتخاب شد و با استفاده از دستگاه اندازه گیری سطح برگ (DELTE-T DEVICES) و کاغذ میلی‌متری اندازه سطح هر برگ بر حسب سانتی‌متر مربع محاسبه گردید. میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل (a+b) نیز طبق روش آرنون (Arnon, 1957) اندازه گیری شد. ارتفاع هر بوته و فاصله بین میانگره‌ها در هر بوته با خط کش اندازه گیری شد.

تعداد برگ‌ها و غده‌ها (بعد از برداشت) در هر گلدان محاسبه و وزن غده‌ها با ترازوی دقیق بر حسب گرم اندازه گیری شد.

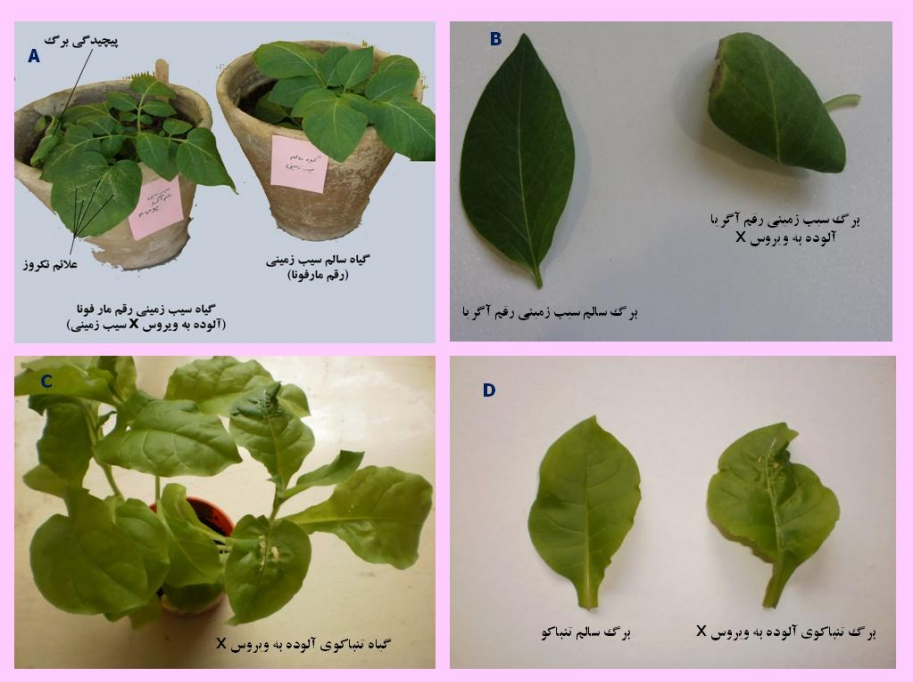
اندازه گیری سالیسیلیک اسید در برگ به روش HPLC

میزان سالیسیلیک اسید در برگ‌های سیب زمینی با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) به شرح زیر اندازه گیری شد. مقدار 0/5 گرم از بافت تازه نمونه برگی به دقت وزن کرده و درون یک تیوب (لوله پلاستیکی درب‌دار) 2 میلی‌لیتری قرار داده شد. سپس 0/6 میلی‌لیتر از ترکیب متانول 90% به آن اضافه شد و به مدت 20 دقیقه درون دستگاه سانتریفیوژ (14000 دور بر دقیقه) قرار داده شد. سپس فاز بالایی را به یک تیوب جدید منتقل کرده و مجددا 0/5 میلی‌لیتر متانول 100% به باقی مانده محلول اضافه شد و بعد از سانتریفیوژ (14000 دور بر دقیقه) به مدت 20 دقیقه فاز بالایی آن با فاز بالائی تیوب قبلی که به یک تیوب جدید منتقل شده بود با هم مخلوط گردید، سپس تیوب را به مدت یک شب در فضای استریل زیر دستگاه هود قرار داده تا متانول اضافی آن خشک شود و فقط 10 تا 50 میکرولیتر از مایع درون تیوب‌ها باقی بماند. بعد از این مرحله 0/5 میلی‌لیتر ترکیب تری‌کلرواستیک اسید (TCA) با غلظت 5% به محتویات تیوب اضافه نموده و سانتریفیوژ (14000 دور بر دقیقه) شد. سپس با انتقال فاز بالایی تیوب به یک تیوب جدید، بافر استخراج به آن اضافه گردید و مجدداً سانتریفیوز (14000 دور بر دقیقه) شد. سپس محلول بالائی را به تیوب جدید منتقل و مقدار 20 میکرولیتر از این نمونه به دستگاه HPLC با شرایط ذکر شده در ذیل تزریق شد. ستون C18 (5µ-250 mm)، مدت زمان عبور از ستون 20 دقیقه، فاز حلال متانول و بافر استات (pH=5.0, 20 mM) به نسبت (42:58) و λ= 290 nm ، با توجه به زمان بازداری طیف استاندارد سالیسیلیک اسید و منحنی کالیبراسیون مقادیر سالیسیلیک اسید در نمونه برگ‌های سیب زمینی اندازه گیری شد.

نتایج و بحث

معمولاً علائم ویروسی روی برگ‌های گیاه بعد از دو تا سه هفته از زمان آلودگی ظاهر می‌شوند. علائم PVX روی برگ گیاهان توتون با علائم PVX روی برگ گیاهان سیب زمینی کاملاً از یکدیگر قابل تشخیص هستند. علائم PVX روی برگ گیاه توتون به صورت پیچش برگی دیده شد (شکل 1) در صورتی که در برگ گیاهان سیب‌زمینی (رقم مارفونا و آگریا) چندان مشهود نبود که با گزارشات بانتری و همکاران (Banttari *et al.*, 1993) و هوکر (Hooker, 1990) مطابقت داشت. با این وجود، برگ گیاهان آلوده نسبت به گیاهان سالم تفاوت‌های جزئی نشان داد، به طوری که برگ گیاهان آلوده به PVX در رقم مارفونا نسبت به برگ گیاهان سالم دارای پیچیدگی و کم رنگ‌تر بود (شکل 1). مقایسه برگ گیاهان آلوده به PVX در رقم آگریا با برگ گیاهان سالم همین رقم در شکل 1 نشان داده شده است. برگ آلوده به PVX نسبت به برگ گیاه سالم در این رقم نیز دارای پیچش برگی است و از نظر رنگ نیز کم رنگ تر از برگ سالم است. PVX علائم مشخصی بر روی برگ‌های سیب زمینی رقم مارفونا و آگریا برجا نمی‌گذارند، از اینرو شاید این دو رقم از ارقام مقاوم سیب‌زمینی در مقابل این ویروس باشند. از سوی دیگر، به

نظر می‌رسد که تاثیر این ویروس بر روی سلول‌های بافت برگی به صورت ملایم باشد، زیرا با وجود این که ویروس مذکور باعث کاهش سطح برگ در سیب‌زمینی رقم مارفونا می‌شود (شکل A-3) اما شکل ظاهری برگ (مورفولوژی برگ) را چندان تغییر نمی‌دهد. نتایج آنالیز واریانس برای صفات بررسی شده در جدول 1 نشان داده شده است.



شکل 1- مقایسه علائم PVX در گیاهان سالم و آلوده. A) مقایسه گیاه سیب زمینی آلوده با PVX با گیاه سالم یا شاهد. B) مقایسه برگ سیب زمینی رقم آگریا آلوده به PVX با برگ سالم (همراه با تغییر شکل برگ و پیچیدگی برگ آلوده و کم رنگ‌تر بودن آن). C) گیاه توتون آلوده به PVX یک تا دو هفته بعد از آلودگی ویروسی. D) مقایسه برگ گیاه توتون آلوده به PVX با برگ سالم گیاه توتون.

جدول 1- آنالیز واریانس برای صفات ارزیابی شده. علائم ** و * به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح 1 و 5 درصد و علامت ns معنی‌دارنبودن را نشان می‌دهند.

منابع تغییر	درجه آزادی	کلرفیل a	کلرفیل b	سطح برگ	فاصله میانگره	تعداد برگ	طول ساقه	تعداد غده	وزن غده
اثر رقم (Cultivar=C)	1	**	**	ns	**	*	**	ns	**
اثر تیمار ویروس X (Virus X=VX)	1	ns	**	*	**	**	**	**	**
اثر تیمار سالیسیلیک اسید (SA)	4	**	**	**	**	**	**	**	**
اثر متقابل C*VX	1	**	**	**	**	ns	**	ns	ns
اثر متقابل C* SA	4	**	**	**	*	ns	ns	**	**
اثر متقابل VX * SA	4	**	**	**	**	**	ns	**	**
اثر متقابل C*VX*SA	4	**	**	**	**	ns	**	ns	**

اثر رقم

نتایج جدول 1 نشان می‌دهد که اثر رقم بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، فاصله میانگره، طول ساقه و وزن غده در سطح 1 درصد و روی تعداد برگ در سطح 5 درصد معنی دار است ولی بر سطح برگ و تعداد غده معنی‌دار نیست. همچنین، نتایج نشان داد که میزان کلروفیل (a، b و a+b) در رقم مارفونا به طور معنی‌داری بیشتر از رقم آگریا بود. این در حالی است که فاصله میانگره، تعداد برگ، طول ساقه و وزن غده در رقم آگریا به طور معنی‌داری بیشتر از رقم مارفونا بود و سطح برگ در رقم مارفونا بیشتر از رقم آگریا بود ولی تعداد غده در رقم آگریا بیشتر از مارفونا بود اما این اختلافات معنی‌دار نبود (داده های مربوط به مقایسه میانگین های اثر رقم نشان داده نشده است). وجود اختلاف بین برخی از صفات بررسی شده در دو رقم می‌تواند ناشی از تفاوت‌های ژنتیکی بین این دو رقم (Balali *et al.*, 2008) یا در راستای سازش و تحمل گیاهان به آلودگی ویروسی باشد (Parker and Gilbert, 2004).

اثر تیمار PVX

نتایج جدول 1 نشان می‌دهد که اثر تیمار PVX بر کلروفیل b، فاصله میانگره، تعداد برگ، طول ساقه، تعداد غده و وزن غده در سطح 1 درصد و روی سطح برگ در سطح 5 درصد معنی‌دار است ولی بر روی میزان کلروفیل a معنی‌دار نبود. همچنین نتایج نشان داد که میزان کلروفیلb در گیاهان سیب‌زمینی آلوده به PVX به نسبت به گیاهان سالم به طور معنی‌داری بیشتر بود. در صورتی که بقیه صفات مورد بررسی در گیاهان سالم به طور معنی‌دار بیشتر از گیاهان آلوده به PVX بود. به نظر می‌رسد که گیاهان برای مقابله با هر نوع تنش زیستی یا غیرزیستی تغییرات سازگاری را ایجاد می‌کنند (Atkinson and Urwin, 2012). شاید افزایش میزان کلروفیل b در گیاهان آلوده به PVX در جهت مقابله با تنش ویروسی بوده باشد. بالا بودن شاخص‌های رشد در گیاهان سالم نسبت به گیاهان آلوده به ویروس یک امر 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 است.

اثر تیمار سالیسیلیک اسید

نتایج جدول 1 نشان می‌دهد که اثر تیمار سالیسیلیک اسید بر کلیه شاخص‌های مورد بررسی در سطح 1 درصد معنی‌دار است. همچنین، نتایج نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a و b به ترتیب در غلظت‌های 0/5 و صفر میلی‌مولار سالیسیلیک اسید بدست آمد. تاثیر سالیسیلیک اسید بر روی میزان کلروفیل کمتر مطالعه شده است و در اینجا نیز یک روند خاصی را نشان نمی‌دهد. با این وجود، با افزایش میزان سالیسیلیک اسید، میزان کلروفیل b در گیاهان آلوده به PVX در رقم آگریا نیز افزایش پیدا می‌کند و یک روند افزایشی در میزان آن مشاهده می‌شود. در رابطه با 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 آنتی اکسیدان در شرایط بیماری در گیاه آلوده نقش حفاظتی ایفا می‌کند (Tuzun and Bent, 2006). از سوی دیگر، بیشترین و کمترین میزان سطح برگ به ترتیب در غلظت‌های 0/2 و0/5

میلی‌مولار سالیسیلیک اسید بدست آمد و یک روند خاصی را نشان نمی‌دهد. همچنین، بیشترین و کمترین فاصله میانگره به ترتیب در غلظت‌های 1 و 0/2 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید بدست آمد، به طوری که با افزایش میزان سالیسیلیک اسید یک روند افزایشی را نشان می‌دهد. علاوه بر این، تعداد برگ، طول ساقه و وزن غده با افزایش میزان سالیسیلیک اسید یک روند کاهشی نشان می‌دهد ولی تعداد غده یک روند افزایشی را دارد که با نتایج هادی و همکاران (Hadi *et al.*, 2008) مطابقت دارد، به طوری که آن‌ها گزارش کرده‌اند که کاربرد سالیسیلیک اسید باعث افزایش تعداد غده در گیاهان سیب‌زمینی می‌شود. از این رو، به نظر می‌رسد که سالیسیلیک اسید بر روی غده‌زائی در گیاه سیب‌زمینی موثر باشد.

اثر متقابل رقم و تیمار PVX

نتایج جدول 1 نشان می‌دهد که اثر متقابل رقم و تیمار PVX بر میزان کلروفیل a و b، سطح برگ، فاصله میانگره و طول ساقه در سطح 1 درصد معنی‌دار است ولی بر تعداد برگ، تعداد غده و وزن غده معنی‌دار نیست. همچنین، بیشترین و کمترین میزان کلروفیل a به ترتیب در رقم‌های سالم مارفونا و آگریا بود، در صورتی که بیشترین و کمترین میزان کلروفیل b به ترتیب در رقم مارفونای آلوده به PVX و رقم سالم آگریا بود. به علاوه، بیشترین سطح برگ و طول ساقه در گیاهان سالم رقم مارفونا وکمترین سطح برگ، فاصله میانگره و طول ساقه در گیاهان آلوده به PVX در رقم مارفونا بود. تاثیر هر نوع آلودگی از قبیل باکتریائی، قارچی یا ویروسی بر روی ارقام مختلف در یک گیاه یکسان نیست وعلت آن این است که ارقام مختلف یک گیاه از نظر ژنتیکی باهم متفاوت هستند و از این رو، مسیرها یا سازوکارهای مقاومت در یک نوع رقم با رقم دیگر از همان گونه ممکن است متفاوت باشد. معمولاً بر اساس شانس بقاء گیاه و 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 ببیند رقم مقاوم‌تری محسوب می‌شود (Hadi *et al.*, 2014).

اثر متقابل رقم و تیمار سالیسیلیک اسید

نتایج جدول 1 نشان می‌دهد که اثر متقابل رقم و تیمار سالیسیلیک اسید بر میزان کلروفیل a وb، سطح برگ، تعداد غده و وزن غده در سطح 1 درصد و بر فاصله میانگره در سطح 5 درصد معنی‌دار است اما بر تعداد برگ و طول ساقه معنی‌دار نیست. همچنین نتایج نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a و کمترین میزان کلروفیل a به ترتیب در غلظت‌های 0/5 و 1 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در رقم آگریا بدست آمد. بیشترین میزان کلروفیل b در غلظت‌های 0/2 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در رقم مارفونا بدست آمد، در صورتی که کمترین میزان کلروفیل b در غلظت‌های 0/5 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در رقم آگریا بدست آمد. غلظت مناسب سالیسیلیک اسید در هر دو رقم سیب‌زمینی برای این که حداکثر میزان کلروفیل a و b بدست آید، غلظت 0/2 تا 0/5 میلی‌مولار است و مقادیر کلرفیل b در رقم مارفونا در تمام غلظت‌های سالیسیلیک اسید بالاتر از رقم آگریا مشاهده شد. بنابراین شاید بتوان گفت که تاثیر بهبود دهندگی سالیسیلیک اسید بر روی رقم مارفونا بیشتر از رقم اگریا بوده است. این اثر بهبود دهندگی می‌تواند ناشی از تشدید میزان آنزیم‌های آنتی اکسیدان تولید شده در رقم مارفونا یا جلوگیری از تکثیر

ویروس در آن باشد (Singh *et al.*, 2004) هرچند در این رابطه نمی‌توان اظهار نظر قطعی کرد. به علاوه، بیشترین و کمترین سطح برگ به ترتیب در غلظت‌های 1 و 0/5 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در رقم مارفونا بدست آمد. بیشترین وزن غده، تعداد غده و فاصله میانگره به ترتیب در غلظت‌های صفر، 1 و 2 میلی مولار سالیسیلیک اسید در رقم آگریا بدست آمد. در رقم آگریا با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید از صفر تا یک میلی مولار، تعداد غده افزایش پیدا می‌کند که با نتایج هادی وهمکاران (Hadi et *al.*, 2008) مطابقت دارد.

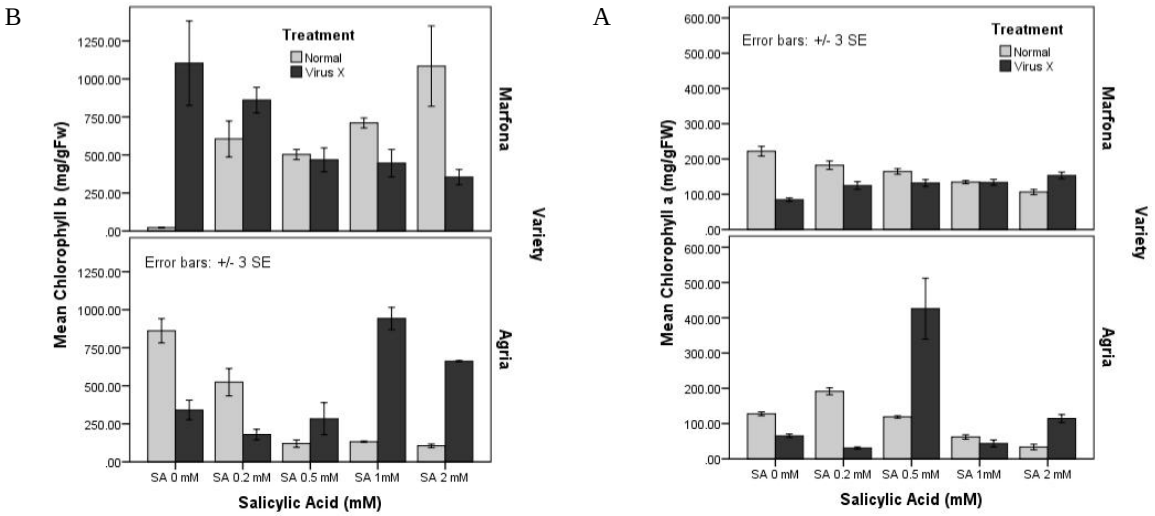
اثر متقابل تیمار PVX و تیمار سالیسیلیک اسید

نتایج جدول 1 نشان داد که اثر متقابل PVX و سالیسیلیک اسید بر کلیه صفات مورد بررسی به جز طول ساقه در سطح 1 درصد معنی‌دار است و بر طول ساقه اثر معنی‌داری ندارد. همچنین نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین میزان کلروفیل a به ترتیب در غلظت‌های 0/5 و0/2 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در گیاهان آلوده به PVX بدست آمد. بیشترین میزان کلروفیل b در غلظت صفر میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در گیاهان آلوده به PVX و کمترین آن در غلظت 0/5 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در گیاهان سالم بدست آمد. به علاوه، بیشترین و کمترین سطح برگ به ترتیب در غلظت‌های 1 و0/5 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در گیاهان سالم بدست آمد. بیشترین فاصله میانگره در غلظت 1 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در گیاهان سالم و کمترین مقدار آن در غلظت 0/5 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در گیاهان آلوده به PVX بدست آمد. بیشترین و کمترین تعداد برگ در غلظت 0/2 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید به ترتیب درگیاهان سیب زمینی سالم و آلوده به PVX بدست آمد. به علاوه، بیشترین میزان تعداد غده در گیاهان سالم و کمترین میزان میانگین تعداد غده در گیاهان آلوده به PVX به ترتیب در غلظت‌های 2 میلی‌مولار و صفر میلی‌مولار سالیسیلیک اسید بدست آمد. بیشترین وزن غده در غلظت 1 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در گیاهان سالم و کمترین میزان آن در غلظت 2 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در گیاهان آلوده به PVX بدست آمد. در تمام غلظت‌های سالیسیلیک اسید، وزن غده و تعداد غده در گیاهان سالم بیشتر از گیاهان آلوده با ویروس است که نشان می‌دهد عملکرد تولید غده در گیاهان آلوده به ویروس نسبت به گیاهان سالم کاهش یافته است و این امر کاملاً طبیعی است، زیرا بخشی از انرژی گیاه در گیاهان آلوده به ویروس صرف مقابل با اثرات مخرب ویروس می‌شود و در نتیجه عملکرد در این گیاهان کاهش پیدا می‌کند. تاثیر سالیسیلیک اسید در بهبود اثرات مخرب PVX ظاهراً مثبت بوده است زیرا تعداد غده در گیاهان آلوده به ویروس با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید افزایش نشان می‌دهد، هر چند که اندازه غده‌ها کوچک‌تر شده‌اند زیرا وزن آن‌ها با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید افزایش پیدا نکرده است.

تاثیر متقابل رقم، تیمار PVX و تیمار سالیسیلیک

نتایج جدول 1 نشان داد که اثر متقابل این سه عامل بر کلیه صفات مورد بررسی در سطح 1 درصد معنی‌دار است به جز تعداد برگ و تعداد غده که اثر معنی‌داری نداشت. همچنین، نتایج نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a در گیاهان آلوده به PVX در غلظت 0/5 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید و کمترین میزان آن درگیاهان آلوده به ویروس در غلظت 0/2 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید در رقم آگریا بدست آمد. به علاوه، شکل A-2 نشان می‌دهد که با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید مقدارکلروفیل a در رقم مارفونا در گیاهان سالم یک روند کاهشی را نمایان می‌کند،

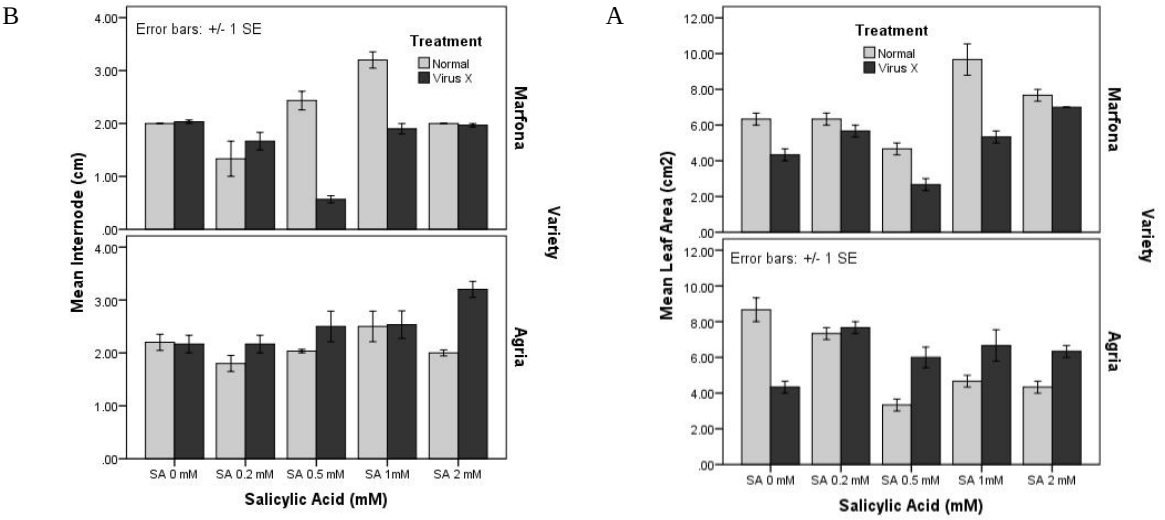
در صورتی که درگیاهان آلوده به ویروس در همین رقم یک روند تقریباً افزایشی را نشان می‌دهد. از این رو، به نظر می‌رسد که افزایش میزان سالیسیلیک اسید در تنش ویروسی یک اثر بهبود دهندگی داشته است و بهترین غلظت سالیسیلیک اسید برای این اثر غلظت 0/5 میلی‌مولار بوده است. بیشترین و کمترین میزان کلروفیل b به ترتیب در گیاهان آلوده به PVX و سالم در رقم مارفونا در غلظت صفر میلی‌مولار سالیسیلیک اسید بدست آمد. همچنین، شکل B-2 نشان می‌دهد که با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید مقدار کلروفیل b در رقم مارفونا درگیاهان آلوده ویروس یک روند کاهشی را نمایان می‌کند، در صورتی که درگیاهان سالم در همین رقم یک روند تقریباً افزایشی را نشان می‌دهد. علاوه بر این، بیشترین میزان سطح برگ در گیاهان سالم و کمترین میزان سطح برگ در گیاهان آلوده به این ویروس در رقم آگریا به ترتیب در غلظت 1 و 0/5میلی‌مولار سالیسیلیک اسید بدست آمد.



شکل 2- A) مقایسه میانگین‌های میزان کلروفیل a (میلی‌گرم در گرم وزن‌تر)؛ و B) میانگین‌های میزان کلروفیل b (میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) در دو رقم سیب زمینی (مارفونا و آگریا) در گیاهان سالم و آلوده PVX رشد یافته در غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید.

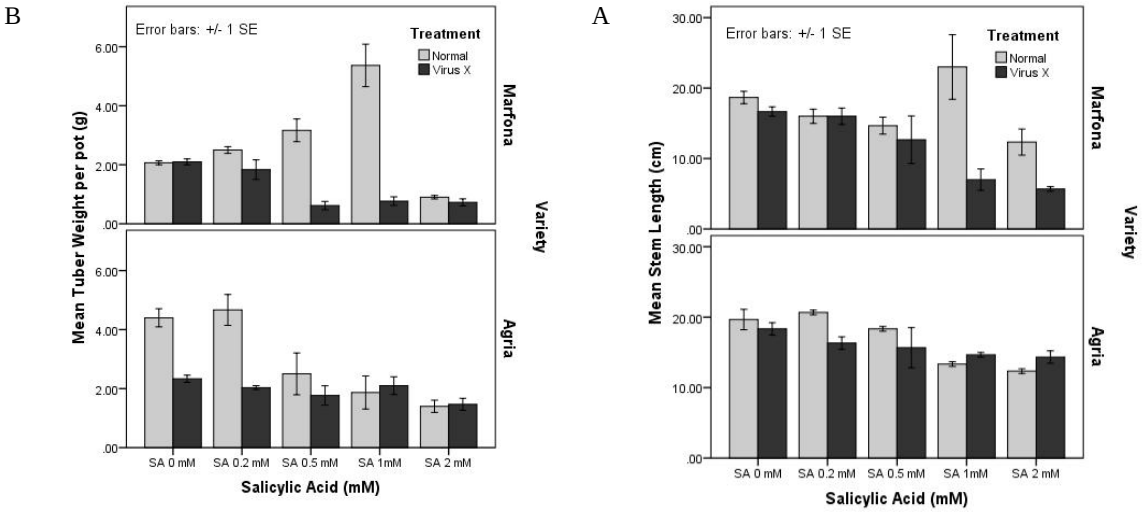
همچنین شکل A-3 نشان می‌دهد که سطح برگ در رقم مارفونا آلوده به ویروس در تمام غلظت‌های سالیسیلیک اسید کمتر از گیاهان سالم در همین رقم است. این موضوع نشان می‌دهد که آلودگی ویروسی باعث کاهش سطح برگ می‌گردد. بنابراین کاهش اندازه سطح برگ در گیاهان آلوده به ویروس در مقایسه با گیاهان سالم یکی از واکنش‌هایی است که گیاه در پاسخ به تنش ویروسی ممکن است انجام دهد که در رقم مارفونا به خوبی دیده می‌شود. هر چند این موضوع را نمی‌توان به طور قطعی بیان نمود ولی در مورد رقم آگریا صادق نیست. به علاوه به نظر می‌رسد که تاثیر سالیسیلیک اسید بر روی سطح برگ یک تاثیر مثبتی بوده است زیرا در گیاهان سالم با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید، یک روند تقریباً افزایشی در سطح برگ مشاهده می‌شود. از سوی دیگر، بیشترین فاصله میانگره در گیاهان سالم وکمترین میزان آن در گیاهان آلوده به ویروس در رقم مارفونا به ترتیب در غلظت 1

و 0/5میلی‌مولار سالیسیلیک اسید بدست آمد. همچنین شکلB-3 نشان می‌دهدکه فاصله میانگره در گیاهان آلوده به ویروس در رقم آگریا با افزایش میزان سالیسیلیک اسید یک روند افزایشی را دارد. گزارش شده است که معمولاً گیاهان زمانی که در شرایط تنش شوری و خشکی قرار می‌گیرند، فاصله میانگره در آن‌ها کاهش پیدا می‌کند (Saraswati *et al.*, 2004; Kelij *et al.*, 2013). از سوی دیگر، بیشترین طول ساقه درگیاهان سالم و کمترین میزان آن درگیاهان آلوده به ویروس در رقم مارفونا به ترتیب در غلظت 1 و 2 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید بدست آمد.



شکل 3- A) مقایسه میانگین‌های سطح برگ (سانتی‌متر مربع)؛ و B) فاصله میانگره (سانتی‌متر) در دو رقم سیب زمینی (مارفونا و آگریا) در گیاهان سالم و آلوده با PVX رشد یافته در غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید.

همچنین شکل A-4 نشان می‌دهد که طول ساقه در هر دو رقم مورد مطالعه در گیاهان آلوده به ویروس با افزایش میزان سالیسیلیک اسید، یک روند کاهشی دارد. به علاوه، طول ساقه در رقم آگریا در گیاهان سالم و آلوده به ویروس با افزایش میزان سالیسیلیک اسید، یک روند کاهشی نشان می‌دهد. این موضوع که با افزایش سالیسیلیک اسید در گیاهان سالم نیزکاهش طول ساقه صورت گرفته است، ممکن است به اثرات منفی سالیسیلیک اسید تفسیر شود ولی با توجه به این که رقم مارفونا این حالت را نشان نمی‌دهد، نمی‌توان اظهار نظر قطعی نمود. آنچه مسلم است این است که گیاهان هنگامی که در شرایط تنش قرار می‌گیرند، به ویژه تنش‌های خشکی و شوری، اندازه آن‌ها کاهش پیدا می‌کند (Jenks *et al.*, 2007). بنابراین کاهش اندازه گیاهان آلوده به ویروس در مقایسه با گیاهان سالم یکی از واکنش‌هایی است که گیاه در پاسخ به آلودگی ویروسی ممکن است انجام دهد که در رقم مارفونا به خوبی دیده می‌شود. از سوی دیگر، بیشترین وزن غده در گیاهان سالم و کمترین میزان آن درگیاهان آلوده به ویروس در رقم مارفونا به ترتیب در غلظت 1 و 2 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید بدست آمد. همچنین شکل B-4 نشان می‌دهد که وزن غده در گیاهان سالم رقم مارفونا با افزایش میزان سالیسیلیک اسید تا غلظت 1 میلی‌مولار، وزن غده نیز افزایش می‌یابد.



شکل 4- A) مقایسه میانگین‌های طول ساقه (سانتی‌متر)؛ و B) وزن غده در گلدان (گرم) در دو رقم سیب زمینی (مارفونا و آگریا) در گیاهان سالم و آلوده با PVX رشد یافته در غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید.

مقایسه میزان سالیسیلیک اسید در برگ آلوده و سالم برگ سیب زمینی

مقادیر سالیسیلیک اسید حاصل از اندازه گیری از برگ‌های هر یک از نمونه‌ها در تیمارهای مورد بررسی در جدول 2 آورده شده است. طبق جدول مذکور مقدار سالیسیلیک اسید برگ گیاهچه‌های سیب زمینی که به روش کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) به دست آمده در رقم آگریا آلوده به PVX و آگریا سالم (عاری از ویروس) به ترتیب ppm 4/8 و2/7 مشخص شده که نشان می‌دهد، تیمار ویروسی باعث افزایش مقدار سالیسیلیک اسید در گیاه سیب زمینی می‌شود.

جدول 2- میزان سالیسیلیک اسید در برگ‌های گیاهان سیب زمینی رقم آگریا سالم و آلوده با PVX رشد یافته در غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید.

تیمار سالیسیلیک اسید	میزان سالیسیلیک اسید (ppm) در برگ سالم	میزان سالیسیلیک اسید (ppm) در برگ آلوده
صفر میلی‌مولار (شاهد)	2/7	4/8
0/2 میلی‌مولار	3/7	7/3
0/5 میلی‌مولار	5/6	10/8
1 میلی‌مولار	8/3	14/7
2 میلی‌مولار	9/8	18/2

همچنین مقایسه گیاهان سالم و آلوده به PVX تیمار شده با غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید نشان می‌دهد که گیاهان آلوده نسبت به گیاهان سالم از مقدار سالیسیلیک اسید بیشتری برخوردار هستند و طبق مقادیر به دست

آمده می‌توان گفت که ویروس باعث افزایش میزان اسید سالیسیلیک در گیاه سیب زمینی گردیده است. طی تحقیقاتی که پانینا و همکاران (Panina *et al.*, 2005) روی غده سیب زمینی سالم و آلوده به بیماری قارچی انجام داده‌اند، مقدار سالیسیلیک اسید در غده‌های سالم و آلوده را با روش HPLC به ترتیب 24 ppm و44 ppm عنوان کرده‌اند و نشان داده‌اند که این میزان اسید سالیسیلیک تولیدی در گیاه می‌تواند ناشی از مقاومت اکتسابی سیستمیک و واکنش فوق حساسیت در گیاه باشد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. به طور کلی نتایج گویای این واقعیت است که گیاهان خانواده سیب زمینی دارای ماده سالیسیلیک اسید می‌باشند که مقدار آن در ارقام مختلف و شرایط رشدی مختلف متفاوت است و تحت تنش ویروسی میزان آن در گیاه افزایش پیدا می‌کند.

سازوکار سالیسیلیک اسید

سالیسیلیک اسید چگونه باعث اثرات بهبود دهندگی در رشد می‌شود؟ اولاً اثر بهبود دهندگی سالیسیلیک اسید در رشد و نمو یک حد مشخصی دارد، زیرا حمله یک پاتوژن (مثل PVX) فقط یک آبشار مرکزی وابسته به سالیسیلیک اسید را راه اندازی نمی‌کند بلکه فعالیت آن چندین علامت که سالیسیلیک‌اسید یکی از آن‌ها است را راه اندازی می‌کند (Thomma *et al.*, 2001). ثانیاً بعد از حمله پاتوژن‌ها (مثل ویروس‌ها)، مقدارسالیسیلیک اسید در گیاهان افزایش پیدا می‌کند (جدول2) که افزایش مقدار گونه‌های اکسیژن فعال را بدنبال دارد و پاسخ‌های دفاعی تحریک می‌شود (Slaymaker *et al.*, 2002). به نظر می‌رسد که مهارکردن زنجیره انتقال الکترون میتوکندریائی از طریق سالیسیلیک اسید منجر به افزایش در گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (Murphy *et al.*, 2004). از سوی دیگر، در گیاهان، سالیسیلیک اسید از رونوشت برداری چندین RNA ویروسی و از حرکت در فاصله طولانی و حتی حرکت سلول به سلول آن جلوگیری به عمل می‌آورد (Singh *et al.*, 2004).

جمع بندی

علائم ویروس بر گیاهان توتون و سیب‌زمینی

علائم PVX در گیاهان توتون با پیچیدگی برگ و لکه‌های نکروز مشاهد شد، در صورتی که علائم این ویروس در برگ گیاهان سیب زمینی (رقم مارفونا و آگریا) چندان مشهود نبود (شکل 1). با این وجود، برگ در گیاهان آلوده به ویروس در رقم مارفونا نسبت به برگ گیاهان سالم در این رقم دارای یک پیچیدگی و کم رنگ‌تر بود و در آن نقاط سفید رنگ دیده می‌شد که احتمالاً ناشی از نکروز شدن سلول است (شکل 1).

میزان بهبود دهندگی سالیسیلیک اسید بر رشد

بر اساس نتایج بدست آمده مشخص شد که کلروفیل a به میزان 57/21 درصد کاهش در گیاهان آلوده نسبت به گیاهان سالم داشته است و با کاربرد سالیسیلیک اسید این میزان کاهش به 2/63 درصد رسیده است، بدین معنی که سالیسیلیک اسید 54/58 درصد اثر بهبود دهندگی در کاهش میزان کلروفیل a در گیاهان آلوده نسبت به گیاهان سالم داشته است. با توجه به این که میزان کلروفیل a هرچقدر بیشتر باشد، میزان فتوسنتز و ساخته شدن مواد بیشتر است، بنابراین کاهش57/21 درصدی این ماده در گیاهان آلوده به PVX می‌تواند بخشی از کاهش میزان رشد در گیاهان آلوده را نشان دهد. از سوی دیگر، سطح برگ به میزان 42/26 درصد کاهش را در گیاهان آلوده نسبت به

گیاهان سالم نشان می‌دهد و با کاربرد سالیسیلیک اسید این میزان کاهش به 11/11 درصد رسیده است، بدین معنی که سالیسیلیک اسید 31/15 درصد اثر بهبود دهندگی در کاهش میزان سطح برگ در گیاهان آلوده نسبت به گیاهان سالم داشته است. با توجه به این که میزان سطح برگ هر چقدر بیشتر باشد، میزان جذب دی‌اکسید کربن، میزان کلروفیل، فتوسنتز و ساخته شدن مواد بیشتر است، از این رو کاهش 42/26 درصدی سطح برگ در گیاهان آلوده، بخشی از کاهش رشد در گیاهان آلوده را نشان می دهد. همچنین تعداد برگ به میزان 21/32 درصد کاهش را در گیاهان آلوده نسبت به گیاهان سالم نشان می‌دهد و با کاربرد سالیسیلیک اسید این میزان کاهش به 18/09 درصد رسیده است، بدین معنی که سالیسیلیک اسید 3/23 درصد اثر بهبود دهندگی در کاهش تعداد برگ در گیاهان آلوده نسبت به گیاهان سالم داشته است. با توجه به این که تعداد برگ هرچقدر بیشتر باشد، میزان جذب دی اکسید کربن، میزان کلروفیل، فتوسنتز و ساخته شدن مواد بیشتر است، از اینرو، کاهش 21/32 درصدی تعداد برگ در گیاهان آلوده می‌تواند بخشی از کاهش رشد در گیاهان آلوده را نشان دهد. از سوی دیگر، تعداد غده به میزان 45/04 درصد کاهش را در گیاهان آلوده نسبت به گیاهان سالم نشان می‌دهد و با کاربرد سالیسیلیک اسید این میزان کاهش به 25/00 درصد رسیده است، بدین معنی که سالیسیلیک اسید 20/04 درصد اثر بهبود دهندگی در کاهش تعداد غده در گیاهان آلوده نسبت به گیاهان سالم داشته است. با توجه به این که تعداد غده هرچقدر بیشتر باشد، عملکرد سیب زمینی بیشتر است، از این رو، کاهش 45/04 درصدی تعداد غده در گیاهان آلوده می‌تواند بخشی از کاهش رشد و عملکرد را در گیاهان آلوده نشان دهد. بنابراین کاربرد سالیسیلیک اسید می‌تواند حداقل به میزان 27/25 درصد (میانگین چهار صفت بالا) از کاهش رشد گیاهان سیب زمینی آلوده به PVX جلوگیری نماید.

مناسب‌ترین غلظت سالیسیلیک اسید برای کاربرد

بر اساس نتایج بدست آمده به نظر می‌رسد که بهترین غلظت برای کسب حداکثر رشد (کسب بیشترین میزان صفات مورد بررسی)، غلظت 0/2 تا 0/5 میلی‌مولار سالیسیلیک اسید باشد. هرچند غلظت‌های بالاتر از0/5 میلی‌مولار آثار منفی خیلی زیادی بر رشد ندارد و حتی میزان برخی از صفات مورد بررسی نیز افزایش پیدا می‌کند.

رقم مقاوم به PVX

با توجه به این که در غلظت صفر میلی‌مولار سالیسیلیک اسید، کلروفیل a در رقم آگریا آلوده به PVX نسبت به گیاهان سالم به میزان 48/98 درصد کاهش نشان می‌دهد در صورتی که میزان کلروفیل a در رقم مارفونا در همین شرایط 61/94 درصد کاهش پیدا کرده است، بنابراین بر اساس این شاخص، رقم آگریا نسبت به رقم مارفونا مقاومت بیشتری نسبت به PVX از خود نشان داده است. میزان کلروفیل b آلوده به PVX نسبت به گیاهان سالم در رقم مارفونا نه تنها کاهش پیدا نکرده است بلکه افزایش خیلی زیادی پیدا کرده است در صورتی که میزان کلروفیل b در رقم آگریا با کاهش 60/39 درصدی روبرو است. بنابراین بر اساس این شاخص نیز رقم مارفونا نسبت به رقم آگریا از مقاومت بیشتری در برابر PVX از خود نشان می‌دهد. همچنین در غلظت صفر میلی‌مولار سالیسیلیک اسید سطح برگ در رقم آگریا آلوده به ویروس نسبت به گیاهان سالم به میزان 50 درصد کاهش نشان می‌دهد در صورتی که سطح برگ در رقم مارفونا در همین شرایط 31/58 درصد کاهش پیدا کرده است، بنابراین بر اساس این شاخص،

رقم مارفونا نسبت به رقم آگریا مقاومت بیشتری نسبت به PVX از خود نشان داده است. هرچند بر اساس کلروفیل a به نظر رقم آگریا بهتر از رقم مارفونا عمل کرده است ولی با توجه به اختلاف بیشتر میزان کاهش در شاخص سطح برگ به نظر می‌رسد که رقم مارفونا نسبت به آگریا در برابر حمله این ویروس مقاومت بهتری از خود نشان داده است. به علاوه، در غلظت صفر میلی‌مولار سالیسیلیک اسید وزن غده در رقم آگریا آلوده به PVX نسبت به گیاهان سالم به میزان 46/97 درصد کاهش نشان می‌دهد در صورتی که میزان وزن غده در رقم مارفونا در همین شرایط نه تنها کاهش پیدا نکرده است بلکه 1/59 درصد نیز افزایش پیدا کرده است، بنابراین براساس این شاخص نیز رقم مارفونا نسبت به رقم آگریا مقاومت بیشتری نسبت به PVX از خود نشان داده است. از سوی دیگر، هرچند بر اساس کلروفیل a و طول ساقه به نظر رقم آگریا بهتر از رقم مارفونا عمل کرده است ولی بر اساس مجموع صفات مورد بررسی به نظر می‌رسد که رقم مارفونا نسبت آگریا در برابر حمله PVX مقاومت بهتری از خود نشان داده است.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت و واحد علوم و تحقیقات فارس سابق به خاطر حمایت‌های مالی و از آقای دکتر غلامرضا بلالی مدیر گروه پژوهشی بیوتکنولوژی سیب زمینی دانشگاه اصفهان به خاطر امکانات لازم جهت انجام تحقیق و از آقای دکتر منصور شریعتی از گروه زیست شناسی به خاطر دراختیار قراردادن بذر توتون و آقای دکتر گلنراقی (گروه گیاهپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران) جهت اهداء جدایه‌ی ویروسی مورد استفاده در این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

1. Arnon DI. 1956. Photosynthesis by isolated chloroplasts. I. V. General concept and comparison of three photochemical reactions. Biochemica Biophysica Acta 20: 449–461.
2. Atkinson NJ and Urwin PE. 2012. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. Journal of Experimental Botany 63: 3523–3543.
3. Balali GR, Hadi MR, Naderi AG, Eslami AH, 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: 1265–1270.
4. Banttari EE, Ellis PJ and Khurana SMP. 1993. Management of diseases caused by viruses and virus-like pathogens. pp. 127-133 *In* RC Rowe (ed.). Potato health management. St. Paul, MN: APS Press.
5. Crosslin J, Hamm P, Shiel P, Hane D, Brown C and Berger P. 2005. Serological and molecular detection of tobacco veinal necrosis isolates of potato virus Y (PVYN) from potatoes grown in the western United States. American Journal of Potato Research 82: 263–269.
6. Hadi MR, Balali GR and Taheri R. 2008. The effect of salicylic acid on the reduction of *Rizoctonia solani* damage in potato. Paper presented at: the 1st National Seminar of potato; 10–12 August; Ardabil, Iran.
7. Hadi MR and Balali GR. 2010. The effect of Salicylic acid on the reduction of *Rizoctonia solani* damage in potato. American-Eurasian Journal Agricultural & Environmental Sciences 7: 492–496.
8. Hadi MR, Balali GR, Moosavi SMR and Hossini F. 2014. The effect of salicylic acid on the reduction of potato virus Y damage in *Solanum tuberosum*. Iranian Journal of Plant Biology 6: 171–183.
9. Hooker WJ. 1990. Compendium of potato disease. St. Paul, MS: APS Press. 125 p.
10. Jellis S. 1992. Multiple resistance to diseases and pests in potatoes. Plant Breeding International 63: 51–58.
11. Jenks MA, Hasegawa PM and Jain SM. 2007. Advances in molecular breeding toward drought and salt tolerant crops. New York: Springer.
12. Kelij S, Majd A, Nematzade G, Jonoubi P and Haghighi L. 2013. Phenylalanine ammonialyase gene expression and activity in relation to lignin deposition in salt stressed *Aeluropus littoralis*. Advanced Studies in Biology 5: 403–412.
13. King AMQ, Adams MJ, Carstens EB and Lefkowitz EJ. 2012 Virus Taxonomy: ninth report of the international committee on taxonomy of viruses. London, UK: Academic Press. 1327 p.
14. Kl-Valkama TM, Lehtinen A, Santala A, Koivu K, Pehu T, Lehto K, Valonen J and Pehu E. 1998. Potato virus Y P1 gene – mediated resistance in transgenic potato. Paper presented at: 7th International Congress of Plant Pathology (ICPP 98); 9–16 August; Edinburg, Scotland.
15. Mohtadinia J and Mohammadrezaie R. 1995. Agronomy and potato storage. Agriculture Research Press, Tehran (in Persian).
16. Murphy AM, Gilliland A, York CJ, Hyman B and Carr JP. 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.
17. Nie X. 2006. Salicylic acid suppresses Potato virus Y isolate N: O-induced symptoms in tobacco plants. Phytopathology 96: 255–263.

18. Panina YS, Gerasimova NG, Chalenko GI, Vasyukova NI and Ozeretskovskaya OL. 2005. Salicylic acid and phenylalanine ammonia-lyase in potato plants infected with the causal agent of late blight. Russian Journal of Plant Physiology 52: 511–515.
19. Parker IM and Gilbert GS. 2004. The evolutionary ecology of novel plant pathogen interactions. Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics 35: 675–700.
20. Peyman M, Ghannadha MR, Majidi S, Zarbakhsh AJ, Darvish F and Hasanabdi H. 2004. Identification and introduction of virus resistant genotypes in potato. Iranian Journal of Agriculture Science 35: 809–815 (in Persian).
21. Pourrahim R, Farzadfar SH, Golnaraghi AR and Ahoonmanesh A. 2007. Incidence and distribution of important viral pathogens in some Iranian potato fields. Plant Disease 91: 609–615.
22. Saraswati P, Johnston M, Coventry R and Holtum J. 2004. Identification of drought tolerant sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) cultivars. Paper presented at: 4th International Crop Science Congress; 26 September – 1 October; Brisbane, Australia.
23. Singh D, Moore KA, Gilliand A and Carr JP. 2004. Activation of multiple antiviral defence mechanisms by salicylic acid. Molcular Plant Pathology 5: 57–63.
24. Slaymaker DH, Navarre DA, Clark D, del Pozo O, Martin GB and Kles-sig DF. 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. PNAS 99(18): 11640–11645.
25. Stevenson WR, Loria R, Franc GD and Weingartner DP. 2001. Compendium of Potato Diseases, 2nd edition. New York: APS Press. 106 p.
26. Thomma BPHJ, Penninckx IAMA, Broekaert WF and Cammue BPA. 2001. The complexity of disease signaling in Arabidopsis. Current Opinion in Immunology 3: 63–68.
27. Tuzun S and Bent E. 2006. Multigenic and induced systemic resistance in plants. New York: Springer Science and Business Media. 521 p.

The effect of salicylic acid on the reduction of potato virus X damage in *Solanum tuberosum*

M.R. Hadi*[1], M.R. Moosavi [2]

Abstract

In this study, in order to reduce the pathogenesis of potato virus X (PVX) in two potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars (Marfona and Agria), the effects of salicylic acid on growth parameters (chlorophyll content, leaf area, distance between nodes, number of leaves, stem length, number and weight of tubers) were investigated under greenhouse conditions. 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 weekly at the rate of 10 ml per plant and for 4 weeks. The leaves of experimental plants were inoculated with PVX, extracted from infected tobacco leaves. Although viral infection symptoms on tobacco were manifested as leaf rippling, no such symptoms were visible on infected potato leaves. Results showed that salicylic acid content in infected plants was about twice that in healthy control plants. Also, treatments with 0.2 and 0.5 mM of salicylic acid resulted in 27.25% reduction in potato damage. Moreover, our study revealed that Marfona cultivar was more resistant to PVX than Agria cultivar.

Key words: *Solanum tuberosum*, Salicylic acid, Potato Virus X.

[1] - Assistant Professor, Department of Biology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran.

[2] - Assistant Professor, Department of Plant Pathology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran.

*Corresponding author: hadi_mohammadreza@yahoo.com