مقاله پژوهشی

تأثیر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بر کاهش آلودگی ویروس برگ بادبزنی مو در شرایط گلخانه

مهرداد صالح‌زاده[۱*]، محمدباقر حسنپوراقدم[۲] و سعیده دهقانپور فراشاه[۳]

[۱] دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

[۲] گروه علوم و مهندسی باغبانی دانشگاه مراغه، ایران

[۳] گروه کشاورزی دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

(تاریخ دریافت:۱۴۰۱/۰۲/۱۶، تاریخ پذیرش نهایی:۱۴۰۱/۰۵/۰۹)

چکیده

بیماری ویروسی برگ بادبزنی مو (***Grapevine fanleaf virus*: GFLV**) از ویروس‌های مهم و مخرب انگور در سراسر جهان است. این ویروس از جنس ***Nepovirus*** است و و با نماتد ***Xhiphinema index*** انتقال می‌یابد. تحقیق حاضر به‌منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک بر میزان آلودگی به ویروس برگ بادبزنی مو در بوته‌های مو (***Vitis vinifera* L.**) در دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز در سال ۱۳۹۸ و در شرایط گلخانه انجام شد. تیمارها شامل محلول‌پاشی به‌صورت پیش تیمار و کاربرد هم‌زمان اسید سالیسیلیک و ویروس (**SA + GFLV**) روی برگ‌های نهال‌های دو ساله انگور رقم سفید بی‌دانه در سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر بود. نهال‌های محلول‌پاشی شده با فسفات پتاسیم (بدون تیمار ویروس و اسید سالیسیلیک) به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. مقایسه میانگین داده‌ها در ارتباط با اثر تیمارها روی نمونه‌های آلوده به ویروس برگ بادبزنی مو نشان داد که بیشترین و کمترین میزان پیشرفت بیماری به‌ترتیب مربوط به تیمار شاهد و محلول‌پاشی با اسید سالیسیلیک قبل از تیمار با ویروس بود. تحلیل پارامترهای فیزیولوژیک نشان داد که آلودگی ویروسی و تیمارهای اسید سالیسیلیک بر متابولیسم سلولی نظیر سطوح رنگدانه‌ها و پروتئین‌ها تأثیرگذار بودند. نتایج این بررسی نشان داد که کاربرد غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک، محتوای پروتئین‌ها را در انگور رقم سفید بی‌دانه به‌طور قابل توجهی افزایش داد. به‌علاوه، فعالیت پراکسیداز و محتوای پرولین گیاهی با مایه‌زنی ویروس هم‌زمان و بعد از تیمار با اسید سالیسیلیک، القاء شد. بنابراین، تیمار اسید سالیسیلیک موجب افزایش مقاومت گیاه در برابر **GFLV** گردید. نتایج حاصل از این پژوهش، تغییرات معنی‌دار در متابولیسم و تولید متابولیت‌های ثانوی در گیاه تحت تأثیر آلودگی ویروسی **GFLV** با تیمارهای اسید سالیسیلیک را نشان داد.

کلمات کلیدی: انگور، پراکسیداز، رنگدانه، متابولیسم

مقدمه

بسیاری از انواع تنش‌های زیستی و غیرزیستی منجر به ایجاد تغییرات مشخص و بارز در فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاهان عالی می‌شوند (Hasanuzzaman *et al.*, 2020). در میان این تنش‌ها، آلودگی توسط بیمارگرها که عامل بروز تغییرات بیوشیمیایی بسیاری هستند، اثرات مخربی بر سلامت گیاهان دارند (Szpunar-Krok *et al.*, 2020).

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: Mehrdadsalehzadeh@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.14.2]

مطابق آخرین گزارش کمیته بین‌المللی رده‌بندی ویروس‌ها (ICTV)، ویروس برگ بادبزنی مو (GFLV) متعلق به جنس نپوویروس (*Nepovirus*) است. این جنس همراه با جنس‌های کوموویروس (*Comovirus*) و فاباویروس (*Fabavirus*) در زیر خانواده کوموویرینه (*Comovirinae*) از خانواده سکوویریده (*Secoviridae*) جای گرفته‌اند. ویروس‌های جنس نپوویروس، چندوجهی هستند و قطری حدود ۳۰ نانومتر دارند. ژنوم GFLV از دو RNA تک‌رشته‌ای مثبت تشکیل شده است که هر کدام در انتهای '۳ پلی‌آدنیله و در انتهای '۵ دارای پروتئین متصل‌به ژنوم (VPg) هستند (Aziz and Hafez, 2019). میزبان‌های طبیعی این ویروس احتمالاً به‌دلیل اختصاصیت ناقل، به گونه‌های جنس *Vitis* و هیبریدهای درون گونه‌ای آن محدود می‌شوند. اخیراً ویروس GFLV از چند علف هرز شامل مرغ (*Cynodon dactylon*)، علف هفت‌بند (*Polygonum* sp.)، قیاق (*Sorghum halepense*) و تمشک (*Rubus* sp.) جداسازی شده است (Zakiaghl *et al.*, 2017). میزبان‌های گلخانه‌ای GFLV، نسبتاً متنوع و شامل ۳۰ گونه متعلق به هفت خانواده گیاهی هستند. در شرایط آزمایشگاهی، این ویروس قابلیت انتقال به گونه‌های آزمایشگاهی زیادی دارد. ویروس GFLV علائم متفاوتی را روی میزبان طبیعی مو و میزبان‌های گلخانه‌ای ایجاد می‌کند (Zaki-Aghl and Izadpanah, 2003). مقاومت سیستمیک اکتسابی (Systemic Acquired Resistance (SAR) در زمان آلودگی به‌وسیله طیف وسیعی از بیمارگرها از جمله ویروس‌ها در میزبان ایجاد می‌شود. چندین ماده شیمیایی به‌عنوان القاءکننده‌های مقاومت سیستمیک اکتسابی در گیاهان شناسایی شده‌اند. اسید سالیسیلیک (SA) به‌عنوان یکی از اجزاء کلیدی انتقال سیگنال دفاعی است که موجب القاء مجموعه‌ی کاملی از ژن‌های مقاومت سیستمیک اکتسابی می‌شود. همچنین، اسید سالیسیلیک به‌عنوان یک تنظیم‌کننده برای فرایندهای فیزیولوژیک نظیر مکانیسم‌های دفاعی گیاه در برابر میکروارگانیسم‌های مضر محسوب می‌شود (Madhava Rao and Sanchez- Rajo, 2013). اصطلاح مقاومت اکتسابی عمومی یا سیستمیک اشاره به تغییر فیزیولوژی در گیاه دارد. برخی تغییرات بیوشیمیایی و فیزیکوشیمیایی وجود دارند که ارتباط آن‌ها با مقاومت سیستمیک اکتسابی اثبات شده است. این تغییرات شامل مرگ سلولی و انفجار اکسیداتیو، رسوب لیگنین، انباشت پرولین، سنتز فیتوالکسین‌ها، انباشت پروتئین‌های مرتبط با بیمارگر، تغییرات در مسیرهای متابولیکی و مقدار رنگدانه‌ها، سنتز کلروفیل و فعالیت پراکسیدازها (POX) هستند. کاربرد اسید سالیسیلیک منجر به انباشت پراکسید هیدروژن شده و به این ترتیب موجب القاء حداقل یکی از مکانیسم‌های حفاظتی سلولی می‌شود که با انباشت گونه‌های فعال اکسیژن همراه است (Lopez Delgado *et al.*, 2013; Abbaspour and Babaee, 2017). در یک پژوهش، Gholi- Tolouie و همکاران (۲۰۱۸) نقش اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک (JA) در بیان ژن‌های رمزکننده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و القاء مقاومت به تنش اکسیداتیو ناشی از مایه‌زنی با ویروس CMV در گوجه‌فرنگی (رقم فلات) را بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که در گیاهان شاهد، بیان ژن‌های رمزکننده آنزیم‌های کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POX) تا روز پانزدهم پس از نشاء روند نزولی داشت، ولی در مورد ژن رمزکننده آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در روز پانزدهم اندکی افزایش بیان مشاهده شد. آن‌ها بیان کردند که برای القاء مقاومت به CMV می‌توان از هورمون‌های SA و JA قبل از آلودگی ویروسی استفاده کرد. نتایج مطالعات مختلف نشان می‌دهد که کاربرد اسید سالیسیلیک منجر به ایجاد حالت تنش اکسیداتیو می‌شود. بنابراین، می‌توان پیش‌بینی کرد که اسید سالیسیلیک قادر است بر فرآیندهای متابولیکی مختلف در گیاهان اثرگذار باشد و از طریق فعال‌سازی تنش اکسیداتیو در فعالیت‌های دفاعی گیاه شرکت کند (Agarawal *et al.*, 2005; Tao *et al.*, 2020).

بررسی‌ها نشان می‌دهد که اطلاعات کمی در مورد برهمکنش‌های گیاه- بیمارگر با آلودگی سیستمیک GFLV وجود دارد. بنابراین در این پژوهش به مطالعه اثرات اسید سالیسیلیک بر آلودگی GFLV پرداخته شد و برخی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.14.2]

شاخص‌های بیوشیمیایی در برگ‌های گیاه مو (*Vitis vinifera* L.) رقم سفید بی‌دانه مورد ارزیابی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و ویروسی: برای تهیه منبع اولیه GFLV، بوته‌های مو با علائم رگبرگ زردی و موزاییک از ایستگاه تحقیقاتی خلعت‌پوشان دانشگاه تبریز در سال ۱۳۹۸ انتخاب شدند. از گیاهان محک مناسب نظیر سلمه‌تره (*Chenopodium quinoa*, *C. amaranticolor* Wild)، گل تکمه‌ای (*Gomphorna globousa*) به‌عنوان میزبان لکه موضعی برای خالص‌سازی بیولوژیکی ویروس استفاده شد و با آزمون PCR، آلودگی آن‌ها به GFLV مورد تأیید قرار گرفت. بخشی از نمونه‌ها در پتری‌های حاوی کلرید کلسیم خشکانیده شد و بخشی دیگر به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل و نگهداری گردید.

نهال‌های مو در ترکیبی از دو قسمت شن و یک قسمت رس در گلدان‌های پلاستیکی (قطر ۱۰ سانتی‌متر) در اتاقک‌های رشد تفکیک شده با فتوپریود ۱۲ ساعت کشت شدند و به مرحله هشت برگی رسیدند. دمای روز و شب به‌ترتیب ۲۴ و ۱۸ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی حدود ۷۰ درصد در نظر گرفته شد.

تیمارهای اسید سالیسیلیک (SA) و مایه‌زنی ویروس: گیاهان به هشت گروه تقسیم شدند و هر گروه متشکل از سه تکرار بود. گیاهان تیمارشده با بافر فسفات پتاسیم به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. برگ‌ها با سه غلظت ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک (شرکت Merck با کد محصول ۲۰۰-۷۱۲-۳) محلول‌پاشی و تا زمان چکه کردن محلول از سطح برگ، تیمار شدند. به‌منظور بهبود توزیع و پاشیدگی محلول، دو قطره توین ۸۰ (Tween 80) به آن افزوده شد. مایه‌زنی ویروس سه روز بعد از محلول‌پاشی SA و همچنین محلول‌پاشی هم‌زمان مخلوط GFLV +SA در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک صورت گرفت. چهار برگ انتهایی جوان به‌طور مکانیکی مایه‌زنی شدند. جهت ایجاد خراش روی برگ‌های مو ابتدا روی آن‌ها پودر کاربوراندوم پاشیده و سپس ویروس خالص و نانودراپ شده با غلظت مشخص روی عصاره برگ‌های آلوده مو که در بافر فسفات پتاسیم (pH=۷) و محلول اسید کافئیک در هاون چینی مخلوط شده بود توسط نوک انگشت اشاره روی این برگ‌ها کشیده شد. پس از ۵ تا ۱۰ دقیقه، سطح برگ‌های مایه‌زنی شده با اسپری آب شستشو شدند تا اثر سوزانندگی بقایای کاربوراندوم روی گیاه برطرف شود. چهار هفته پس از مایه‌زنی، جوان‌ترین برگ‌ها از گیاهان شاهد و آلوده برای تجزیه و تحلیل تغییرات بیوشیمیایی جمع‌آوری شدند (Panno *et al*., 2021).

ردیابی ویروس GFLV با RT-PCR: استخراج RNA کل از نمونه‌ها با استفاده از روش Rowhani و همکاران (۱۹۹۳) با تغییراتی انجام شد. در این روش، RNA کل از ۰/۱ گرم برگ آلوده در ۲ میلی‌لیتر بافر سرد (pH= ۷/۶) استخراج و در نهایت در ۲۵ میلی‌لیتر آب‌مقطر استریل حل شد. استخراج RNA کل از نمونه‌ها با استفاده از روش Rowhani و همکاران (۱۹۹۳) با تغییرات صورت گرفت. در این روش ۰/۱ گرم از برگ آلوده در ۲ میلی‌لیتر بافر استخراج سرد مطابق روش Rowhani و همکاران (۱۹۹۳) استخراج و درنهایت در ۲۵ میلی‌لیتر از آب مقطر استریل حل شد. جهت انجام RT-PCR برای شناسایی ویروس از یک جفت آغازگر اختصاصی ویروس براساس بخشی از توالی نوکلئوتیدی RNA2 منطبق بر ناحیه رمزکننده پروتئین پوششی نژاد GFLV-F13 (Serghini *et al*., 1990) استفاده گردید. توالی آغازگر مستقیم (GFLV CP-F) 5'ACGGATCCGGATTAGCTGGTAGAGGAG3' و آغازگر معکوس (GFLV-CP-R) 5'GTCAAAGCTTCTAGACTGGGAAACTGG3' بود و قطعه ژنوم تکثیریافته با این آغازگرها حدود ۱۵۱۲ جفت باز تعیین شد. مرحله آغازین این آزمون در حجم ۱۰ میکرولیتر در ترموسایکلر مدل ۲۰۰۰ Biometra (Germany) صورت گرفت. مرحله اول برای از بین رفتن ساختار ثانویه و اتصال اولیه آغازگرها با الگو انجام شد. مواد آزمون شامل ۱ میکرولیتر RNA استخراج شده به‌همراه ۱/۱ میکرولیتر آب

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.14.2]

مقطر دیونیزه استریل و ۰/۴ میکرولیتر از محلول آغازگر معکوس (۵ pmol/µl)، در میکروتیوب مخلوط شد و سپس در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه قرار گرفت. سپس جهت اجتناب از تشکیل مجدد ساختارهای ثانویه، میکروتیوب‌ها سریعاً روی یخ انتقال یافتند. ۷/۵ میکرولیتر از ترکیب حاوی دو میکرولیتر بافر آرتی x ۱/۵ میلی‌مولار، ۴۰ واحد Rnasin dNTP و ۲۰۰ واحد (نیم میکرولیتر) آنزیم ترانسکریپتاز معکوس (Fermentas, M-Mulv Lithuania) به هر لوله اضافه شد. پس از اضافه کردن مخلوط تهیه شده به هر کدام از میکروتیوب‌ها، به‌مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفتند. سپس مجدداً میکروتیوب‌ها به دستگاه ترموسایکلر انتقال یافتند و یک ساعت در ۴۲ درجه سانتی‌گراد که دمای مورد نیاز برای فعالیت بهینه آنزیم نسخه‌بردار معکوس است، قرار داده شدند. بعد از این مرحله، میکروتیوب‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌منظور غیرفعال نمودن آنزیم نسخه‌بردار معکوس و یک دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. مخلوط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر تهیه شد که حاوی ۲ میکرولیتر بافر PCR 10X، ۲ میلی‌مولار $MgCl_2$، ۲/۵ پیکومول از هر آغازگر و ۱/۲۵ واحد آنزیم Taq DNA polymerase (Fermentas Lithuania) بود. سپس ۲/۵ میکرولیتر از cDNA سنتز شده در آزمون RT-PCR به این ترکیب اضافه گردید. در PCR، از پروفیل حرارتی یک سیکل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، سی و پنج سیکل متشکل از ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه، ۵۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه و در نهایت یک سیکل ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه استفاده شد. به منظور ارزیابی نتایج حاصل از RT-PCR، الکتروفورز در ژل آگاروز ۱/۲ درصد حاوی اتیدیوم بروماید در بافر ۰/۵ X TBE الکتروفورز صورت گرفت و ۴ میکرولیتر از فرآورده‌های آزمون RT-PCR با ۲ میکرولیتر رنگ بروموفنول‌بلو ۶X و ۶ میکرولیتر آب‌مقطر دیونیزه مخلوط و در چاهک‌ها ریخته شدند. برای دانستن اندازه محصولات آزمون RT-PCR، از نشانگر EcoRI + Hind III (1 µg/µl Lambda DNA) استفاده شد. عکس‌برداری از ژل با استفاده از دستگاه Gel Documentation (Syngene Gene Flash Bio, USA) صورت گرفت.

تعیین غلظت ویروس: برای تعیین غلظت ویروس از روش اسپکتروفتومتر نانودراپ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) (NanoDrop™) و فرمول زیر برای یکسان بودن غلظت ویروس مایه‌زنی شده روی نهال‌های مو در مرحله هشت برگی و تعیین غلظت ویروس برحسب (نانوگرم بر میکرولیتر) بعد از اعمال تیمارها استفاده شد (Panno *et al.*, 2021):

ضریب رقت × ۵۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر DNA = OD 260 ×

تعیین درصد آلودگی گیاهان: چهار هفته پس از مایه‌زنی (Panno *et al.*, 2021)، درصد گیاهان آلوده و شدت علائم با استفاده از مقیاس درجه‌بندی (صفر: بدون علائم، ۱: لکه‌های کلروزه و موزاییک خفیف، ۲: موزاییک شدید و ۳: تاول و تغییر شکل) مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت (Sriram *et al.*, 1997; Sudhakar *et al.*, 2006). مقادیر شدت بیماری (Disease severity: Ds) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$DS = \frac{\text{کد بیماری هر برگ} \times \text{مجموع تعداد نمونه برگ}}{\text{تعداد نمونه‌های برگ} \times \text{حداکثر کد بیماری مشاهده شده طی آزمایش}}$$

تعیین رنگدانه‌های فتوسنتزی: محتوای کلروفیل a (Chl a)، کلروفیل b (Ch1 b) و کاروتنوئیدهای کل از طریق روش طیف‌سنجی Arnon (۱۹۴۹) در تیمارهای مختلف تعیین شد. ۲۸ روز پس از مایه‌زنی با ویروس، برگ‌های با سن مشابه برای استخراج رنگدانه برداشت شدند. محتوای رنگدانه از برگ‌های تازه در استون محلول ۸۵ درصد (v/v) عصاره‌گیری شد. عصاره در ۴۰۰۰ دور بر دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و سپس مایع رونشین با محلول استون ۸۵ درصد با غلظت مناسب برای اندازه‌گیری طیف‌سنجی رقیق‌سازی شد.

تعیین محتوای پرولین: چهار هفته بعد از اعمال تیمارها (تیمار GFLV به‌صورت منفرد و تیمار هم‌زمان اسید سالیسیلیک (در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.14.2]

ویروس (SA + GFLV)، محتوای پرولین جوان‌ترین برگ‌ها برطبق مطالعه Bates و همکاران (۱۹۷۳) تعیین شد. ۰/۱ گرم برگ خشک در ۱۰ میلی‌لیتر محلول سولفو اسید سالیسیلیک ۳ درصد عصاره‌گیری شد. عصاره در ۱۵۰۰ دور بر دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. مجموعاً ۲ میلی‌لیتر مایع رونشین با ۲ میلی‌لیتر محلول نین‌هیدرین تازه و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال در لوله آزمایش به‌مدت ۱ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد ترکیب شد. واکنش در حمام یخ به پایان رسید و ترکیب با ۴ میلی‌لیتر تولوئن عصاره‌گیری و محصول به‌مدت ۲۰ ثانیه مخلوط شد. تولوئن حاوی کروموفور از فاز آبی استخراج و میزان جذب آن در ۵۲۰ نانومتر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. محتوای پرولین با استفاده از منحنی استاندارد تعیین و براساس وزن خشک محاسبه شد.

بررسی محتوای پروتئین‌ها: چهار هفته بعد از اعمال تیمارها (تیمار GFLV به‌صورت منفرد و تیمار هم‌زمان اسید سالیسیلیک (در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر) و ویروس (SA + GFLV)، استخراج عصاره آنزیمی براساس روش Kar و Mishra (۱۹۷۶) انجام شد. در این روش برای هر نمونه ۳۰۰ میلی‌گرم از بافت گیاهی در زمان ۸ برگی، جوان‌ترین برگ‌ها (چهار برگ بالایی و جوان تیمار شده) در نیتروژن مایع با هاون چینی به پودر تبدیل شدند. سپس سه میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH =۶/۸) به هر نمونه اضافه شد. نمونه‌ها به‌مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. مایع بالایی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها مورد استفاده قرار گرفت. ارزیابی تغییرات کل پروتئین در هر نمونه با استفاده از روش ژل پلی‌آکریل‌آمید در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر و برحسب میلی‌گرم پروتئین در هر گرم بافت گیاه انجام شد.

بررسی فعالیت گایاکول پراکسیداز (GPX): بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز براساس کاربرد گایاکول به‌عنوان دهنده هیدروژن انجام شد. در این روش، مخلوط واکنش به میزان ۱/۱۸ میلی‌لیتر شامل ۳۷۵ میکرولیتر بافر فسفات (۱۰۰ میلی‌مولار، pH= ۶/۸)، ۳۷۵ میکرولیتر گایاکول (۱۰ میلی‌مولار)، ۴۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (۷۰ میلی‌مولار)، ۱۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی و ۳۷۵ میکرولیتر آب‌مقطر استریل بود. میزان جذب نور در طول‌موج ۴۷۰ نانومتر به‌مدت ۳ دقیقه با فواصل ۳۰ ثانیه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. ضریب خاموشی برای گایاکول ۲۶/۶ است و باتوجه به اینکه برای تولید یک مول تتراگایاکول باید ۴ مول H_2O_2 کاهش یابد، نتایج به‌صورت میکرومول تتراگایاکول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین براساس روش Chance و Maehly (۱۹۵۵) محاسبه شد. هر آزمایش دو بار تکرار شد. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

فعالیت پراکسیداز = $(\Delta A\ 470\ nm \times 1000 \times 2)/X$

در این فرمول $\Delta A\ 470\ nm$ تغییرات میزان جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر و X ضریب خاموشی (Extinction coefficient) می‌باشد که برابر ۲۶/۶ است.

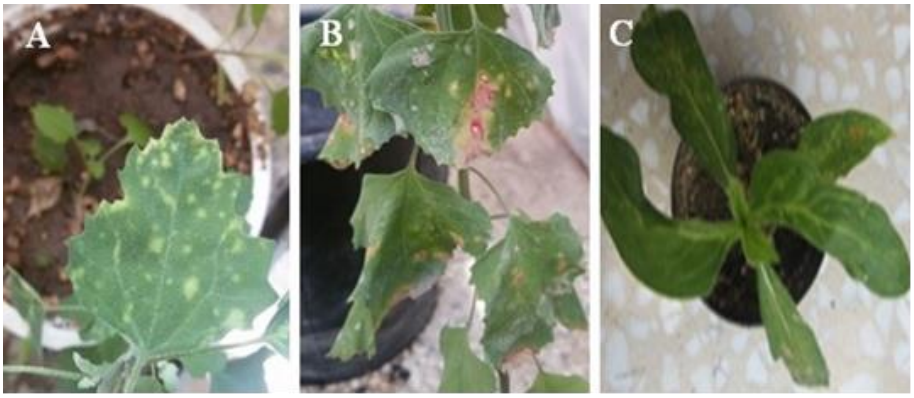
تجزیه و تحلیل‌های SDS PAGE: SDS PAGE با استفاده از ژل‌های پلی‌آکریل‌آمید ۱۰ درصد برطبق روش Laemmli (۱۹۷۰) انجام شد. نمونه‌های پروتئین (هر کدام ۴۰ میکروگرم) با حجم برابر بافر حاوی SDS (۴ درصد و ۶/۸ = pH)، Tris HCl ۰/۱۲۵ مولار، ۲۰ درصد گلیکول و ۱۰ درصد ۲- مرکاپتواتانول و بروموفنول‌بلو به‌صورت رنگ ردیابی، ترکیب شد. محلول تهیه شده در حمام آب به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۶ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و روی ژل به‌مدت شش ساعت در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد در بافر حاوی ۰/۰۲۵ مولار تریس، ۰/۱۹۲ مولار گلیسین و ۰/۱ مولار SDS بارگذاری شد. باندهای پروتئین با استفاده از رنگ کوماسی بریلینت‌بلو نمایش داده شدند.

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌های تیمارهای مختلف با سه تکرار انجام شد. در هر بار انجام آزمایش تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای Excel و (Version 22) SPSS و براساس رویه ANOVA و آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح $P \leq 0.05$ انجام شد.

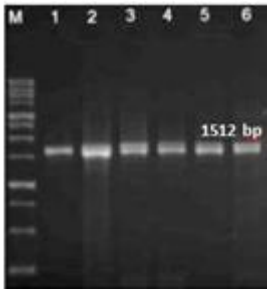
نتایج و بحث

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.14.2]



شکل ۱- علائم لکه موضعی ویروس برگ بادبزنی مو روی میزبان‌های لکه موضعی
لکه‌های سبز زرد روی برگ‌های *Chenopodium quinoa*: A، *C. amaranticolor*: B و *Gomphorna globousa*: C



شکل ۲- ردیابی *Grapevine fanleaf virus* (GFLV) با RT-PCR و آغازگرهای ژن پروتئین پوششی GFLV

آلودگی ویروسی منجر به تغییرات بسیاری در فرایندهای فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و متابولیکی درون گیاه می‌شود. این تغییرات که در طی توسعه آلودگی ویروسی رخ می‌دهند باعث ظهور علائم بیماری می‌گردند (Aseel *et al.*, 2019). بررسی‌ها نشان می‌دهد که اطلاعات کمی در مورد برهمکنش‌های گیاه بیمارگر با آلودگی سیستمیک نظیر آلودگی GFLV وجود دارد.

علائم روی گیاهان محک: در این مطالعه در اثر مایه‌زنی گیاهان *C. quinoa*، *C. amaranticolor* و *G. globosa* با GFLV لکه‌های موضعی کلروزه روی برگ‌ها تشکیل شد (شکل ۱). مطالعات مختلف نشان می‌دهد که در این بیماری برگ‌های آلوده ظاهر پیچ‌خورده پیدا می‌کنند و کاهش رشد شاخ و برگ و عملکرد رخ می‌دهد (Aseel *et al.*, 2019; Sokhandan Bashir *et al.*, 2011).

ردیابی مولکولی ویروس برگ بادبزنی مو: ردیابی بر-اساس ژن پروتئین پوششی ویروس برگ بادبزنی مو انجام گرفت. در این آزمون از شاهد مثبت (ژن پروتئین پوششی کلون شده در یک پلاسمید) (چاهک شماره ۱) استفاده شد (Sokhandan *et al.*, 2011). درنهایت با انجام این آزمون با کاربرد آغازگرهای منطبق بر منطقه رمزکننده پروتئین پوششی روی نمونه‌های مشکوک به آلودگی با GFLV قطعه‌ای به طول حدود ۱۵۱۲ جفت باز از نمونه شاهد مثبت و پوشش پروتئینی ویروس تکثیر شد (شکل ۲).

تغییرات در شدت آلودگی ویروسی: در این مطالعه، برگ‌های جدید نهال‌های آلوده به ویروس برگ بادبزنی مو، چهار هفته پس از مایه‌زنی علائم شدید بیماری نظیر موزاییک شدید، تاول‌های سبز، کاهش اندازه و بد شکل شدن را نشان دادند (شکل ۳). تیمار برگ‌ها با غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک، هفت روز بروز علائم را به تأخیر انداخت درحالی‌که غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک تأخیر بیش از ۱۰ روز در ظهور علائم را نشان داد. همچنین با بررسی نهال‌ها چهار هفته پس از مایه‌زنی مشخص شد که کاربرد اسید سالیسیلیک بعد از مایه‌زنی با ویروس،

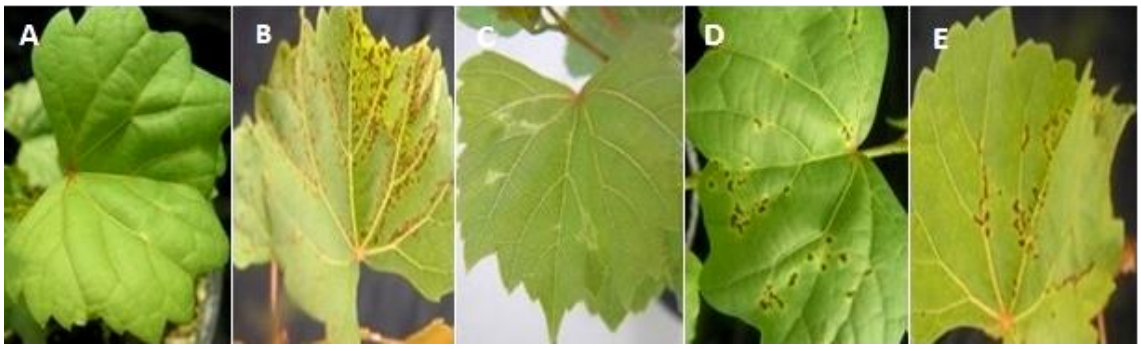
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.14.2]



شکل ۳- تأثیر *Grapevine fanleaf virus* (GFLV) روی مورفولوژی برگ‌های انگور (*Vitis vinifera* L.)

جدول ۱- اثر تیمارهای مختلف بر غلظت ویروس برگ بادبزنی مو (GFLV)، درصد آلودگی و شدت علائم در برگ‌های مو

تیمارها	غلظت ویروس		درصد آلودگی		شدت بیماری
GFLV	۱/۱۴۲	۰/۱۳۷	۸۱/۲۴	۱/۹۵	۵۴/۲
۵۰ mg/L SA+ GFLV	۰/۷۹۱	۰/۰۷۵	۴۳/۱۴	۱/۰۵*	۱۰/۳
۱۰۰ mg SA + GFLV	۰/۲۰۸	۰/۰۹۰	۲۰/۱۶	۰/۸۵*	۲/۳
۱۵۰ mg SA + GFLV	۰/۱۱۴	۰/۰۲۵	۲/۱۴	۰/۰۶*	۰/۱۷



شکل ۴- اثر تیمارهای مختلف بر علائم ویروس برگ بادبزنی مو (GFLV) روی برگ‌های انگور (A: شاهد، B: GFLV، C: 150 mg SA (Salicylic acid) + GFLV، D: 100 mg SA + GFLV و E: 50 mg SA + GFLV)

درصد آلودگی و شدت علائم را کاهش داد (جدول ۱ و شکل ۴). گیاهان تیمار شده با غلظت ۵۰ میلی‌گرم اسید سالیسیلیک (بعد از تیمار ویروس)، علائم خفیف را نشان دادند درحالی‌که در برگ‌های محلول‌پاشی شده با غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سالیسیلیک، علائم ویروسی خیلی ناچیز ارزیابی گردید. باتوجه به نتایج جدول فوق کاهش در غلظت ویروس، درصد آلودگی و شدت بیماری با افزایش سطح اسید سالیسیلیک مشاهده شد. ارزیابی نتایج، تفاوت معنی‌داری در مقایسه با شاهد در سطح ۰/۰۵ نشان داد.

محتوای رنگدانه فتوسنتزی: محتوای رنگدانه فتوسنتزی برگ‌ها (کلروفیل a، b و کارتنوئیدها) به‌طور معنی‌داری در پاسخ به هر دو تیمار ویروس برگ بادبزنی مو (GFLV) و کاربرد هم‌زمان اسید سالیسیلیک و ویروس (SA + GFLV) کاهش یافت درحالی‌که برگ‌های تیمار شده با اسید سالیسیلیک بدون مایه‌زنی با ویروس، تغییری نشان ندادند (جدول ۲).

براساس نتایج به‌دست آمده (جدول ۲) آلودگی GFLV

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.14.2]

جدول ۲- اثر تیمارهای مختلف ویروس برگ بادبزنی مو (GFLV) و اسید سالیسیلیک (SA) بر محتوای رنگدانه‌های برگ‌های مو (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)

تیمارها	کلروفیل a		کلروفیل b		کاروتنوئیدها	a/b	رنگدانه کل (٪)	
Control	۰/۳۹	۰/۰۳	۰/۱۸	۰/۰۱	۰/۲۴	۲/۳۰	۰/۸۷	۱۰۰/۰۰
GFLV	۰/۲۳	۰/۰۸*	۰/۰۸	۰/۰۳*	۰/۱۳	۲/۷۵	۰/۴۶	۵۲/۵۰
۵۰ mg/L SA	۰/۳۸	۰/۰۲	۰/۱۶	۰/۰۰	۰/۲۱	۲/۶۴	۰/۹۱	۱۰۴/۱۵
۵۰ mg/L SA+ GFLV	۰/۲۹	۰/۰۴*	۰/۱۰	۰/۰۱*	۰/۱۷	۲/۵۲	۰/۵۶	۶۴/۳۶
۱۰۰ mg/L SA	۰/۴۰	۰/۰۲	۰/۱۴	۰/۰۲	۰/۲۳	۲/۶۸	۰/۸۵	۹۷/۳۶
۱۰۰ mg/L SA+GFLV	۰/۳۳	۰/۰۱	۰/۰۹	۰/۰۰*	۰/۱۷	۳/۸۸	۰/۶۴	۷۳/۶۹
۱۵۰ mg/L SA	۰/۴۱	۰/۰۴	۰/۱۳	۰/۰۱	۰/۲۱	۲/۷۹	۰/۸۱	۹۲/۸۹
۱۵۰ mg/L SA+ GFLV	۰/۳۸	۰/۱۰	۰/۱۰	۰/۰۴*	۰/۲۱	۳/۰۰	۰/۶۶	۷۵/۷۸

منجربه کاهش معنی‌دار همه اجزای رنگدانه‌ها در مقایسه با گیاه شاهد گردید. نسبت کلروفیل a/b برای برگ‌های آلوده به GFLV نیز بالاتر از این نسبت در شاهد ارزیابی شد. کاربرد غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک و ویروس منجر به کاهش بسیار کم مقدار کلروفیل b و کارتنوئید و کاهش محتوای کل رنگدانه‌ها درمقایسه با برگ‌های سالم شد. کاربرد غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک بدون مایه‌زنی با ویروس، افزایش بسیار کمی را در محتوای رنگدانه‌ها نشان داد. در همه تیمارهای اسید سالیسیلیک، نسبت کلروفیل a/b بالاتر از میزان محاسبه شده در نمونه شاهد بود. افزایش نسبت کلروفیل a/b، ناشی از کاهش مقدار کلروفیل b نسبت به کلروفیل a ارزیابی گردید که نشان می‌دهد کلروفیل b به آلودگی GFLV و تیمار اسید سالیسیلیک حساس‌تر است. با افزایش سطح اسید سالیسیلیک، مقدار رنگدانه کل کاهش و نسبت a/b افزایش یافت. بر طبق نتایج این پژوهش، مقدار کارتنوئید در برگ‌های آلوده به GFLV کاهش یافت درحالی‌که با تیمارهای اسید سالیسیلیک، این سطح در مقایسه با گیاه شاهد، ثابت باقی ماند. این نتایج نشان می‌دهد که اسید سالیسیلیک می‌تواند منجر به بهبود مولکول‌های کارتنوئید در برابر تجزیه و پیشگیری از تجزیه اجزای تشکیل‌دهنده رنگدانه شود. در بررسی Tecsi و همکاران (۱۹۹۶) مشخص شد که آلودگی سیستمیک کدو با ویروس *Cucumber mosaic virus* باعث کاهش فتوسنتز می‌شود. آن‌ها همچنین بیان کردند که ویروس‌های گیاهی با آلودگی‌های سیستمیک از اهمیت ویژه‌ای به‌عنوان مهارکننده و بازدارنده سنتز کلروفیل برخوردار هستند زیرا به‌طور پیوسته در طی رشد و نمو گیاه توسعه می‌یابند. پژوهش Wood (۱۹۹۰) نیز نشان داد که کاهش در سرعت فتوسنتز، اغلب با کاهش مقدار کلروفیل در گیاهان آلوده به ویروس همراه است.

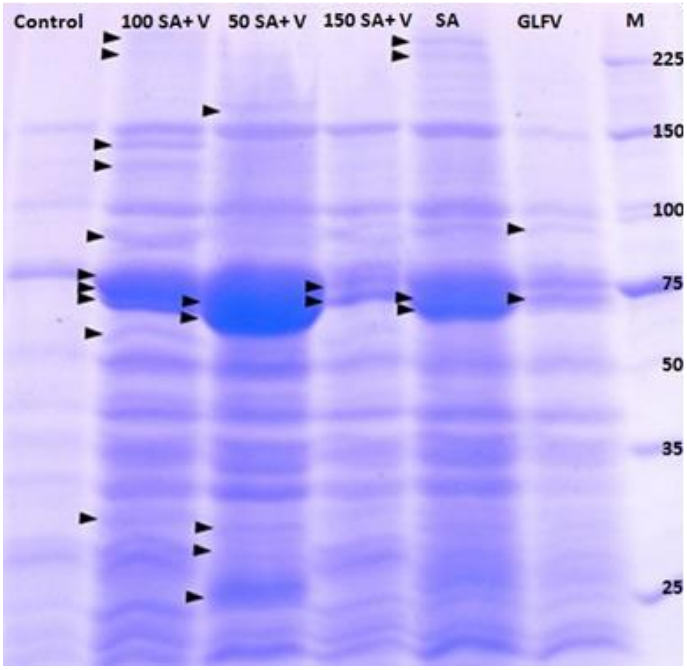
تعیین محتوای پروتئین‌ها: محتوای پروتئین برگ‌های شاهد و تیمارهای مختلف ویروس برگ بادبزنی مو و اسید سالیسیلیک در شکل ۵ و جدول ۳ نشان داده شده است. در پاسخ به مایه‌زنی ویروس، محتوای پروتئین کل به‌طور معنی‌داری درمقایسه با شاهد افزایش یافت. همچنین افزایش معنی‌داری در سطوح پروتئین با همه تیمارهای اسید سالیسیلیک همراه با ویروس و بدون مایه‌زنی با ویروس، مشاهده شد که نشان می‌دهد انباشت پروتئین در پاسخ به همه تیمارهای اسید سالیسیلیک و آلودگی ویروسی صورت می‌گیرد. در پاسخ به تلقیح ویروسی، محتوای پروتئین محلول، نامحلول و پروتئین کل به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد تلقیح نشده افزایش یافت. اسپری یا محلول‌پاشی برگ‌ها با ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک بدون تلقیح ویروس موجب افزایش پروتئین‌های محلول و کل به‌ترتیب ۱۶۳/۴۸ و ۱۳۴/۳۰ درصد شد. از سوی دیگر، ۱۰۰ میکرومول (SA+GFLV)

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.14.2]

جدول ۳- تأثیر تیمارهای مختلف ویروس برگ بادبزنی مو (GFLV) و اسید سالیسیلیک (SA) بر محتوای پروتئین (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) برگ‌های مو (*Vitis vinifera*)

تیمارها	پروتئین محلول	پروتئین نامحلول	پروتئین کل
Control	۳/۱۷	۱۰/۱۹	۷/۹۶*
GFLV	۱/۶۶*	۱۱/۶۹*	۱۲/۴۱
۵۰ mg/L SA	۲/۱۲	۱۹/۹۳	۲۲/۴۶*
۵۰ mg/L SA+ GFLV	۳/۹۲*	۱۲/۳۱*	۱۰/۸۸
۱۰۰ mg/L SA	۰/۰۷۱*	۱/۵۹*	۱/۵۱
۱۰۰ mg/L SA+GFLV	۲/۱۹*	۱۹/۴۶*	۲۱/۵۹*
۱۵۰ mg/L SA	۳/۴۷*	۵/۹۲	۹/۹۳
۱۵۰ mg/L SA+ GFLV	۱/۶۹	۱۵/۹۶*	۱۶/۸۱*



شکل ۵- تأثیر تیمارهای مختلف ویروس برگ بادبزنی مو (GFLV) و اسید سالیسیلیک (SA) بر تغییرات الگوی پروتئینی برگ‌های مو

موجب افزایش ۱۶۵/۶۱ درصد و ۱۳۰/۰۹ درصد محتوای پروتئین محلول و کل با توجه به نمونه شاهد شد.

نتایج این بررسی در مورد مقدار پروتئین با تحقیقات مربوط به الگوهای پروتئین با SDS PAGE همخوانی دارند. باندهای پروتئینی جدید و افزایش زیاد در تراکم باندهای پروتیئنی مشاهده شد. افزایش معنی‌دار در سطوح پروتئین محلول، نامحلول و کل در پاسخ به آلودگی GFLV و تیمارهای اسید سالیسیلیک برگ‌های مو مشاهده شد. تیمارهای اسید سالیسیلیک موجب القاء تشکیل پروتئین‌های جدید و افزایش تراکم باند به‌خصوص در کاربرد هم‌زمان اسید سالیسیلیک و ویروس (SA + GFLV) شد. این نتایج نشان می‌دهد که اسید سالیسیلیک نقش مهمی در القاء مقاومت در مو در برابر GFLV از طریق تشکیل پلی‌پپتیدهای جدید یا پروتئین‌های مربوط به پاتوژنز (PRs) دارد. به‌علاوه، همه مسیرهای مربوط به تیمارهای اسید سالیسیلیک، مقدار بالاتری از پروتئین را نشان داد که حاکی از آن است که اسید

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.14.2]

سالیسیلیک موجب القاء پروتئین‌های دفاعی بیشتری می‌شود. تشکیل پروتئین‌های جدید و انباشت پروتئین یک شاخص اندازه‌گیری مقاومت به آلودگی GFLV است. مشابه این نتایج، گزارش شده است که کاربرد خارجی اسید سالیسیلیک موجب القاء مقاومت به TMV و انباشت پروتئین‌های PR در گیاهان تنباکو می‌شود. نتایج بررسی‌ها حاکی از آن است که انباشته شدن PR موجب افزایش تولید اسید سالیسیلیک و درنتیجه، بیان ژن‌های دفاعی دیگر در حضور ویروس می‌گردد. همچنین اسید سالیسیلیک موجب خاموشی RNA ویروس می‌شود و انباشته شدن RNA ویروس را به تأخیر می‌اندازد (Devadas and Raina, 2002) نتایج این تحقیق نشان داد که تنش ناشی از آلودگی GFLV موجب تغییر عمده‌ای در سطح مولکولی در درختان مو می‌شود و این تغییرات، زمینه القاء مقاومت در گیاه را فراهم می‌کند. درصورتی‌که گیاه حساس به بیمارگر باشد، سیستم‌های دفاعی آن در برابر ویروس ناکارآمد خواهد بود و ویروس می‌تواند به سرعت در کل گیاه پخش گردد. بنابراین، کاربرد اسید سالیسیلیک می‌تواند سیستم دفاعی گیاه را فعال و تقویت کند و موجب کاهش خسارت ناشی از ویروس گردد.

تعیین فعالیت گایاکول پراکسیداز (GPX): تأثیر آلودگی ویروسی و تیمارهای مختلف با اسید سالیسیلیک بر فعالیت آنزیم GPX در شکل ۶ نشان داده شده است.

پراکسیدازها از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی دخیل در پاسخ‌های دفاعی گیاهان به حمله بیمارگرها محسوب می‌شوند و اغلب اولین آنزیم‌هایی هستند که تغییراتی را در زمان تنش ایجاد می‌کنند (Li *et al.*, 2017). براساس نتایج این بررسی، افزایش معنی‌دار فعالیت GPX در همه تیمارها در مقایسه با گیاه شاهد مشاهده شد. مشابه این نتایج، Milavec و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که در برگ‌های سیب‌زمینی آلوده به ویروس Y، فعالیت پراکسیدازها در همه میزبان‌هایی که دارای علائم نکروتیک یا کلروتیک هستند، القاء می‌شود و درجه تحریک با شدت علائم همبستگی دارد. در این مطالعه، نتایج شاخص شدت علائم با داده‌های فعالیت پراکسیداز همخوانی دارد که در آن هرچه شدت علائم بالاتر باشد، فعالیت GPX بالاتر خواهد بود. همچنین این افزایش در تیمار با ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر اسید سالیسیلیک و ویروس برگ بادبزنی مو (SA+V) به بالاترین مقدار خود رسید و سپس فعالیت آن با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک کاهش یافت. این یافته‌ها نشان می‌دهد که اسید سالیسیلیک بر القاء حداقل یکی از مکانیسم‌های سیستم آنتی-اکسیدانی تأثیر می‌گذارد. بنابراین از سطح فعالیت پراکسیدازها می‌توان به‌عنوان شاخصی برای تنش زیستی و توسعه مقاومت سیستمیک اکتسابی استفاده کرد.

هیچ‌گونه رابطه شفافی بین فعالیت پراکسیداز و مقدار کلروفیل وجود ندارد زیرا محل عمل پراکسیداز در چارچوب آپوپلاست است. با این حال براساس نتایج این پژوهش مشاهده می‌شود که در یک سطح تیمار مقدار کلروفیل کاهش و فعالیت پراکسیداز افزایش می‌یابد. پراکسیداز در مکانیسم گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species (ROS)) نقش دارد. انباشت ROS منجر به آسیب اکسیداتیو از طریق فعالیت‌هایی نظیر پراکسیداسیون لیپیدی و تخریب غشایی می‌شود. ROS عامل اصلی تجزیه کلروفیل بوده و سطوح پراکسیداز در طی پیری گیاه افزایش می‌یابد (Singh *et al.*, 2004). بنابراین بین کاهش مقدار کلروفیل و افزایش فعالیت پراکسیداز در برگ‌های سبز آلوده به ویروس، همبستگی وجود دارد (Kalachova *et al.*, 2012). همچنین، پراکسیداز، مرحله نهایی سنتز لیگنین را کاتالیز کرده و ارتباط مستقیمی با افزایش فعالیت متابولیسم‌های لیگنیفیکاسیون دارد (Chaerle *et al.* 2006). بنابراین، این شیوه‌ای برای تفسیر فعالیت بالاتر پراکسیداز در طی عفونت ویروسی و تیمارهای SA است که در آن فرایند لیگنیفیکاسیون به‌عنوان مکانیسم مقاومت پاتوژن در نظر گرفته می‌شود.

مقدار پرولین: بررسی‌ها افزایش معنی‌دار محتوای پرولین در برگ‌های آلوده به ویروس برگ بادبزنی مو و تیمار شده با اسید سالیسیلیک را نشان داد (جدول ۴).

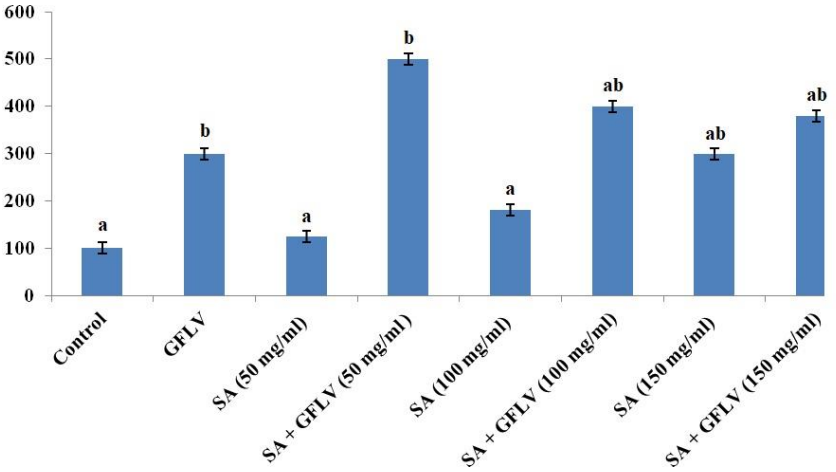
تنش‌های زیست‌محیطی موجب تحریک انباشت پرولین در طیف وسیعی از گونه‌های گیاهی می‌شوند. انباشت پرولین،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.14.2]

جدول ۴- تأثیر تیمارهای مختلف ویروس برگ بادبزنی مو (GFLV) و اسید سالیسیلیک (SA) بر محتوای پرولین برگ‌های مو (میلی‌گرم بر گرم وزن خشک)

تیمارها	محتوای پرولین (٪)	
Control	۲/۳۸	۰/۲۲
GFLV	۳/۲۶	۰/۱۶*
۵۰ mg/L SA	۲/۷۱	۰/۳۱
۵۰ mg/L SA+ GFLV	۳/۵۱	۰/۱۲*
۱۰۰ mg/L SA	۳/۳۶	۰/۲۶*
۱۰۰ mg/L SA+GFLV	۳/۶۲	۰/۲۴*
۱۵۰ mg/L SA	۳/۳۲	۰/۰۳*
۱۵۰ mg/L SA+ GFLV	۳/۵۹	۰/۲۸*



شکل ۶- تأثیر تیمارهای مختلف ویروس برگ بادبزنی مو (GFLV) و اسید سالیسیلیک (SA) بر فعالیت گایاکول پراکسیداز (GPX) برگ‌های مو

یکی از تنظیم‌کننده‌های اسمزی در پاسخ به تنش‌های زیستی محسوب می‌گردد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که محتوای آزاد پرولین در بافت‌های برگ آرابیدوپسیس افزایش یافته و موجب فعال‌شدن پاسخ فوق حساسیت به میکروارگانیسم‌ها می‌شود (Hoque *et al.*, 2007). در این پژوهش، محلول‌پاشی سالیسیلک اسید به برگ‌ها باعث انباشت پرولین در آن‌ها شد. سالیسیلک اسید بدون آلودگی ویروسی موجب بهبود انباشت پرولین می‌گردد. این نتایج با گزارش Wei و همکاران (۲۰۰۶) همخوانی دارد که در آن برگ‌های تنباکو تیمارشده با NO (نیتریک اکسید)، SA و H_2O_2 افزایش پرولین، آمینواسیدهای آزاد و محتوای پروتئین محلول با غلظت پایین را نشان دادند. به‌علاوه، افزایش پرولین با تیمار ترکیبی سالیسیلک اسید با ویروس می‌تواند ناشی از اثر فاکتور مضاعف (تنش ویروس و سالیسیلک اسید) باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که همه پارامترهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مورد بررسی در برگ‌های مو، تغییرات معنی‌داری را در پاسخ به آلودگی ویروس برگ بادبزنی مو و تیمارهای سالیسیلک اسید دارند. بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.14.2]

سالیسیلک اسید می‌تواند نقش مهمی را در القاء مقاومت سیستمیک اکتسابی در القاء فعالیت پراکسیدازها و پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی ایفا کند.

منابع

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. International Journal of Horticultural Science and Technology 4: 29-50.

Agarawal, S., Sairam, R. K., Srivastava, G. C. and Meena, R. C. (2005) Changes in antioxidant enzymes activity and oxidative stress by abscisic acid and salicylic acid in *wheat* genotypes. Biologia Plantarum 49: 541-550.

Arnon, D. I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology 24: 1-15.

Aseel, D. G., Abdel-Aziz, M. H. and Hafez, E. E. (2019) Detection and identification of a new isolate of *Grapevine fanleaf virus* naturally infecting grapevine plants in Egypt using qReal Time- PCR. Novel Research in Microbiology Journal 3: 493-501.

Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Chaerle, L., Pineda, M., Romero-Aranda, R., Van Der Straeten, D. and Baron, M. (2006) Robotized thermal and chlorophyll fluorescence imaging of *Pepper mild mottle virus* infection in *Nicotiana benthamiana*. Plant and Cell Physiology 47: 1323-1336.

Chance, B. and Maehly, A. C. (1955) Assay of Catalases and Peroxidases Methods in Enzymology.

Devadas, S. K. and Raina, R. (2002) Preexisting systemic acquired resistance suppresses hypersensitive response-associated cell death in Arabidopsis hrl1 mutant. Plant Physiology 128: 1234-1244.

Gholi-Tolouie, S., Sokhandan-Bashir, N., Davari, M. and Sedghi, M. (2018) Evaluation of antioxidant gene expression in tomato plants inoculated by *Cucumber mosaic virus* after treatment with salicylic and jasmonic acids. Genetic Engineering and Biosafety Journal 6: 223-235.

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M. B., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Al Mahmud, J., Fujita, M. and Fotopoulos, V. (2020) Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. Antioxidants 9: 681.

Hoque, M. A., Okuma, E., Banu, M. N. A., Nakamura, Y., Shimoishi, Y. and Murata, Y. (2007) Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities. Journal of Plant Physiology 164: 553-561.

Kalachova, T. A., Iakovenko, O. M., Kretinin, S. V. and Kravets, V. S. (2012) Effects of salicylic and jasmonic acid on phospholipase D activity and the level of active oxygen species in soybean seedlings. Membrane and Cell Biology 6: 243-248.

Kar, M. and Mishra, D. (1976) Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiology 57: 315-319.

Laemmli, U. K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227: 680-685.

Li, Y., Qin, L., Zhao, J., Muhammad, T., Cao, H., Li, H., Zhang, Y. and Liang, Y. (2017) SlMAPK3 enhances tolerance to tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) by regulating salicylic acid and jasmonic acid signaling in tomato (*Solanum lycopersicum*). PLoS One 12: e0172466.

Lopez-Delgado, H. A., Mora- Herrera, M. E., Martinez-Gutierrez, R. and D- Sanchez-Rajo, S. (2013) Short and long term effects of salicylic acid on protection to phytoplasma associated stress in potato plants. In: Salicylic Acid-A Plant Hormone. (eds. Hayat, S., Ahmad, A. and Alyemeni, M. N.). Dordrecht, The Netherlands Springer.

Milavec, M., Ravnikar, M. and Kovac, M. (2001) Peroxidases and photosynthetic pigments in susceptible potato infected with potato virus YNTN. Plant Physiology and Biochemistry 39: 891-898.

Panno, S., Caruso, A. G., Bertacca, S., Pisciotta, A., Lorenzo, R. D., Marchione, S. and Davino, S. (2021) Genetic structure and molecular variability of grapevine fanleaf virus in sicily. Agriculture 11: 496.

Rowhani, A., Chay, C., Golino, D. A. and Falk, W. (1993) Development of a polymerase chain reaction technique for the detection of *Grapevine fanleaf* nepovirus in grapevine tissue. Phytopathology 83: 749-753.

Serghini, M. A., Fuchs, M., Pinck, M., Reinbolt, J., Walter, B. and Pinck, L. (1990) RNA2 of grapevine fanleaf virus: Sequence analysis and coat protein cistron location. Journal of General Virology 71: 1433-1441.

Singh, D. P., Moore, C. A., Gilliland, A. and Carr, J. P. (2004) Activation of multiple antiviral defense mechanisms by salicylic acid. Molecular Plant Pathology 5: 57-63.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.14.2]

Sokhandan Bashir, N., Pashaei, A. and Doulati-Banel, H. (2011) Charachterization of the full length coat protein gene of Iranian *Grapevine fanleaf* virus isolates, genetic variation and phylogenetic analysis. Iranian Journal of Biotechnology 9: 213-221.

Sriram, S., Raguchander, T., Vidhyasekaran, P., Muthukrishnan, S. and Samiyappan R. (1997) Genetic relatedness with special reference to virulence among the isolates of *Rhizoctonia solani* causing sheath blight in rice. Journal of Plant Diseases and Protection 104: 260-271.

Sudhakar, N., Nagendra-Prasad, D., Mohan, N. and Murugesan, K. (2006) Induction of systemic resistance in *Lycopersicon esculentum* cv. PKM1 (tomato) against *Cucumber mosaic* virus by using ozone. Journal of Virological Methods 139: 71-77.

Szpunar-Krok, E., Janczak-Pieniazek, M., Skrobac, Z. K., Bobrecka-jamro, D. and Balawejder, M. (2020) Response of potato (*Solanum tuberosum* L.) plants to spraying by hydrogen peroxide. Sustainability 12: 2469.

Tao, X., Wu, Q., Aalim, H., Li, L., Mao, L., Luo, Z. and Ying, T. (2020) Effect of exogenous abscisic acid on bioactive components and antioxidant capacity of postharvest tomato during ripening. Mulecules 25: 1346.

Tecsi, L., Smith, A. M., Maule, A. J. and Richard, C. (1996) A spatial analysis of physiological changes associated with infection of cotyledons of marrow plants with cucumber mosaic virus. Plant Physiology 111: 975-985.

Wei, X., Wang, L. M., Long, R. J. and Wang, G. X. (2006) Effects of exogenous nitric oxide, salicylic acid and hydrogen peroxide on free amino acid and soluble protein contents in tobacco leaves. Physiology and Molecular Biology of Plants 32: 257-260.

Wood, K. R. (1990) Pathophysiological alternations. In: Plant Viruses, Pathology. (ed. Mandahar, C. L.). CRC Press. Boca Raton.

Zaki-Aghl, M. and Izadpanah, K. (2003) Serological and molecular identification of *Grapevine fanleaf* virus in Iran. Iranian Journal of Plant Pathology 39: 161-171 (In Farsi with English summary).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.14.2]

The effect of Salicylic acid foliar application on grapevine (*Vitis vinifera* L.) *fanleaf virus* (GFLV) infection under greenhouse conditions

Mehrdad Salehzadeh [1*], Mohammad Bagher HasanpourAghdam[2], Saeedeh Dehghanpour Farashah[3]

[1] Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
[2] Department of Horticultural Sciences Faculty of Agriculture University of Maragheh, Iran
[3] Department of Agriculture, Payame Noor University, Tehran, Iran
(Received: 06/05/2022, Accepted: 03/07/2022)

Abstract

Grapevine fanleaf virus (GFLV) is one of the most important and destructive grapevine viruses worldwide. This virus is a genus Nepovirus and is transmitted by the Xhiphinema index nematode. The present study was conducted to investigate the effect of salicylic acid foliar application on the incidence of GFLV on grapevine (Vitis vinifera L.) plants in the Faculty of Agriculture of Shiraz University in greenhouse conditions in 1398. Treatments included spraying as pretreatment and simultaneous application of salicylic acid and virus (SA + GFLV) on the leaves of biennial seedlings of white seedless cultivar in three concentrations of 50, 100 and 150 mg / l. Seedlings sprayed with potassium phosphate (without virus and salicylic acid treatment) were considered as controls. Comparison of the data mean to the effect of treatments on infected samples with GFLV showed that the highest and lowest disease progression were related to the control and salicylic acid spraying before treatment with the virus, respectively. Analysis of physiological parameters showed that viral contamination and salicylic acid treatments affected cellular metabolism such as levels of pigments and proteins. The results of this study showed that the application of different concentrations of salicylic acid significantly ramped up the protein content of white seedless grapes. In addition, peroxidase activity and plant proline content were induced by virus inoculation simultaneous and post salicylic acid treatment. Therefore, salicylic acid treatment increased plant resistance to GFLV. The results of this study showed significant changes in metabolism and production of secondary metabolites in the plant under the influence of GFLV viral infection with salicylic acid treatments.

Keywords: Grape, Peroxidase, Pigment, Metabolism

Corresponding author, Email: Mehrdadsalehzadeh@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1402.12.53.14.2]