

بررسی امکان القای مقاومت سیستمیک اکتسابی در گوجه فرنگی علیه بیماری شانکر ساقه با کاربرد سالیسیلیک اسید و برخی مشتقات آن

مرضیه اسماعیل زاده^{۱*} - محمد جواد سلیمانی^۲ - حمید روحانی^۳

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۲/۲۷

تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۱/۵

چکیده

استفاده از مواد شیمیایی القاء کننده که از یک سو سبب فعال سازی مکانیزمهای دفاعی گیاه قبل از رویارویی با پاتوژن شوند و از سوی دیگر خطرات زیست محیطی نداشته باشند در سالهای اخیر مورد توجه محققین قرار گرفته است. گوجه فرنگی یکی از محصولات زراعی مهم است که اخیراً بعنوان گیاه مدل در برهمکنش های میزبان-پاتوژن شناخته شده است. بیماری شانکر ساقه گوجه فرنگی با عامل *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* یکی از بیماریهای مهم با گسترش جهانی است. تأثیرات احتمالی استفاده از سالیسیلیک اسید (SA) و ۶ مشتق آن شامل؛ ۴-کلرو سالیسیلیک اسید، ۵-کلرو سالیسیلیک اسید، ۵-متوکسی سالیسیلیک اسید، ۵-آمینوسالیسیلیک اسید، ۵-متیل سالیسیلیک اسید، ۳-۵-دی نیتروسالیسیلیک اسید در القاء مقاومت میزبانی بررسی شد. اسپری برگی مواد شیمیایی با غلظتهای مختلف ۴۰۰، ۲۰۰ و ۵۰۰ μM علیه بیماری شانکر ساقه انجام شد. نتایج بدست آمده نشان داد که غلظت ۲۰۰ μM مواد برای القاء مقاومت علیه بیماری غلظتی ناکافی می باشد. استفاده از SA، ۴-کلروسالیسیلیک اسید و ۵-متوکسی سالیسیلیک اسید در غلظت ۴۰۰ μM شاخص بیماری را به طرز معنی داری نسبت به شاهد آلوده کاهش داد. تیمارهای ۵-کلروسالیسیلیک اسید و ۳-۵-دی نیتروسالیسیلیک اسید در این غلظت بی اثر بودند. تمام مواد مورد استفاده در غلظت ۵۰۰ μM نتوانستند سبب کاهش معنی دار علائم بیماری نسبت به شاهد آلوده شوند اما همچنین سبب ایجاد گیاهسوزی در گیاهان مورد آزمایش شدند. نتایج بدست آمده از HPTLC همبستگی بالایی را بین افزایش میزان SA آزاد در برگ گیاهان تیمار شده و کاهش سطح لکه‌ها ($r^2=0/59$) و نیز کاهش تعداد لکه های نکروز ($r^2=0/82$) نشان داده است.

واژه های کلیدی: مقاومت سیستمیک اکتسابی، مشتقات سالیسیلیک اسید، گوجه فرنگی، شانکر ساقه، HPTLC

مقدمه

سبب انجام تحقیقات گسترده‌ای در این زمینه شده است. گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentom* Mill) یکی از محصولات اقتصادی مهم است که به تازگی به عنوان گیاه مدل در برهم کنش های گیاه-پاتوژن شناخته شده است (۲). عوامل بیماریزای مختلفی شامل قارچها، باکتریها، ویروسها و نماتدها می توانند سبب کاهش محصول آن شوند. لکه برگی آلترناریایی یا شانکر ساقه یکی از بیماریهای متداول گوجه فرنگی است که در بسیاری از نقاط جهان و نیز ایران وجود دارد (۱). بیماری شانکر ساقه گوجه فرنگی توسط *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* بوجود می آید و تولید کنندگان گوجه فرنگی هر ساله خسارات اقتصادی قابل توجهی را متحمل می شوند (۱۶). یکی از روشهای بالقوه در مدیریت بیماریهای گیاهی استفاده از مقاومت سیستمیک اکتسابی (SAR) جهت فعال سازی مکانیزمهای دفاعی گیاه است (۱۴). فعال سازی مقاومت به بیماری با

گیاهان در برابر حمله میکروارگانیسمهای بیماریزا که حیات آنها را تهدید می کنند پاسخ های دفاعی مختلفی را نشان می دهند. یکی از این پاسخها مقاومت سیستمیک اکتسابی (SAR) است که می تواند بوسیله محصولات ژنهای غیر بیماریزای پاتوژنها و یا عوامل غیر زنده فیزیکی و شیمیایی که الیسیتور خوانده می شوند القاء شود (۶). استفاده از مواد شیمیایی که مکانیزمهای دفاعی گیاه را قبل از رویارویی با پاتوژن فعال می کنند و فاقد اثرات زیست محیطی زیان آور هستند در سالهای اخیر به میزان زیادی مورد استقبال قرار گرفته و

۱ و ۲- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی،

دانشگاه بوعلی سینا همدان

(*) نویسنده مسئول :

(Email: keayla9ghost@yahoo.com)

۳- دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

استفاده از ۱۰ میلی لیتر آب مقطر استریل و بوسیله یک لامل کنیدیها از سطح محیط کشت شسته شدند. زاد مایه قارچ بوسیله یک لام هماسیتومتر و با استفاده از آب مقطر تا رقت 1×10^5 conidia/ml^۵ رقیق گردید (۳).

آزمایشات گلخانه ای

سه روز قبل از بکارگیری سوسپانسیون کنیدی، گیاهان بوسیله غلظتهای ۴۰۰،۲۰۰ و $500 \mu\text{M}$ سالیسیلیک اسید و سایر مشتقات آن محلول پاشی شدند (۲۲). چهل و هشت ساعت قبل از مایه زنی گیاهان درون اتاقک رشد مرطوب با رطوبت نسبی ۱۰۰٪ و دمای 22°C - 26°C قرار داده شدند. گیاهان بعد از پاشش سوسپانسیون اسپور به مدت ۲۴ ساعت در شرایط تاریکی نسبی قرار داده شدند و بعد از آن روزانه به منظور ظهور علائم بررسی شدند. ۴ روز پس از مایه زنی میزان بیماری براساس مساحت لکه های نکروزه و تعداد لکه ها با استفاده از کمترین حد بزرگنمایی میکروسکوپ نوری در ۴ برگ مرکب گیاهچه ها اندازه گیری شدند. تمام تیمارها بصورت ۴ گلدان حاوی ۲ گیاه درون هریک و بر اساس طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با چهار تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند.

به منظور بررسی لکه های تک سلولی نکروزه حاصل از پاسخ فوق حساسیت پس از انجام اسپور پاشی از گیاهان تیمار شده با $500 \mu\text{M}$ SA و ۴۰۰ و نیز گیاهان مربوط به تیمار شاهد سالم و آلوده، برگ سوم جدا شد و درون تشتک های سترون حاوی کاغذ صافی مرطوب سترون قرار داده شد. این تشتکها ابتدا به مدت ۲۴ ساعت در شرایط تاریکی و دمای 25°C نگهداری و سپس به مدت ۷۲ ساعت در دمای 25°C و دوره نوری ۱۲ ساعته قرار داده شدند. به منظور بررسی لکه های ناشی از مرگ سلولی ۱۰ میدان دید بصورت تصادفی در سطح این برگها انتخاب شد و با بزرگنمایی $20 \times$ میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت. نسبت لکه های HR به لکه های معمولی در تیمارهای مختلف اندازه گیری شد.

مواد شیمیایی

SA و سایر مشتقات آن از شرکت های Sigma-aldrich و Merck خریداری شد. مشتقات سالیسیلیک اسید شامل استخلاف های یونی متفاوتی بشرح مندرج در جدول ۱ بود. SA و سایر مشتقات آن با استفاده از آب مقطر سترون تا رسیدن به غلظت نهایی $400, 200$ و $500 \mu\text{M}$ حل شدند.

استفاده از مواد شیمیایی امکان دیگری را در اختیار کشاورزان قرار می دهد تا محصولات خود را در برابر بیماریهای گیاهی حفظ کنند. یکی از متداولترین محرکهای شیمیایی بکار گرفته شده تاکنون سالیسیلیک اسید (SA) می باشد که قادر است اثرات یک آلودگی موضعی را تقلید کند (۱۳). قبلاً در آزمایشی با استفاده از گیاهان توتون تراریخته با ژن سالیسیلات هیدروکسی لاز (*NahG*) که سبب تبدیل SA به کتکول (مولکولی شبیه به SA اما فاقد توان القاء مقاومت) می شود ضرورت وجود SA برای بیان SAR در این گیاه نشان داده شده است (۷).

مکانیزمهای انتقال پیام و مسیر آن که در SAR وجود دارد بطور گسترده ای مورد تحقیق قرار گرفته است (۱۳، ۷، ۱۰، ۵). تیمار خارجی گیاهان با استفاده از SA و برخی مواد دیگر شامل اسید پلی آکرلیک، استیل سالیسیلیک اسید، ۲ و ۶ دی کلرو ایزونیکوتینیک اسید، متیل سالیسیلات، مشتقات بنزوتیادیزول، DL-B آمینوبوتیریتیک اسید و اگزالیک اسید قادرند سبب تجمع پروتئینهای مرتبط با بیماریزایی شده و منجر به کاهش خسارت ناشی از چندین عامل بیمارگر در محصولات مختلف شوند (۸). از آنجایی که سالیسیلیک اسید مولکول انتقال پیام مهمی است که نقش حساسی را در دفاع میزبان در برابر حمله پاتوژنها ایفا می کند (۱۳)، در این تحقیق امکان کاربرد خارجی SA و برخی مشتقات آن در فعال سازی مقاومت سیستمیک اکتسابی (SAR) علیه قارچ *A. alternata* f. *sp. lycopersici* در گیاه گوجه فرنگی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

آماده سازی گیاهان

بذور گیاه گوجه فرنگی رقم ارگون درون گلدانهای پلاستیکی (قطر دهانه ۲۵ سانتیمتر) حاوی خاک سترون شده با بخار آب ۶۵ درجه سانتیگراد، کاشته شده و در شرایط کنترل شده گلخانه (دمای 26°C - 20°C) تا مرحله رشدی مورد نظر نگهداری شدند. بعد از ۳ هفته گیاهان در مرحله ۴ برگگی انتخاب و در آزمایشها مورد استفاده قرار گرفتند.

تهیه زاد مایه قارچ

جدایه تک اسپور شده قارچ *A. alternata* f. *sp. Lycopersici* جدا شده از گوجه فرنگی که بیماری زایی آن قبلاً اثبات شده بود در محیط کشت سیب زمینی هویج آگار (PCA) کشت داده شد و در شرایط دمایی 4 ± 20 با دوره نوری ۸ ساعت روشنایی و ۱۶ ساعت تاریکی نگهداری گردید. بعد از ۲ هفته از رشد قارچ در این شرایط با

(جدول ۱) - نام مواد شیمیایی مورد استفاده و شرکت سازنده آنها

شرکت سازنده	فرمول شیمیایی	ماده شیمیایی
Merck KGaA, Darmstadt, Germany	C ₇ H ₆ O ₃	سالیسیلیک اسید
Merck-Schuchardt, Germany	C ₇ H ₅ ClO ₃	۵-کلرو-۲-هیدروکسی بنزوئیک اسید (۵-کلروسالیسیلیک اسید)
	C ₇ H ₇ NO ₃	۵-آمینو-۲-هیدروکسی بنزوئیک اسید (۵-آمینوسالیسیلیک اسید)
	C ₈ H ₈ O ₄	۵-متوکسی سالیسیلیک اسید
	C ₇ H ₄ N ₂ O ₇	۲-هیدروکسی-۳-دی نیترو بنزوئیک اسید (۳-دی نیترو سالیسیلیک اسید)
Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany	C ₇ H ₅ ClO ₃	۴-کلرو سالیسیلیک اسید
	C ₈ H ₈ O ₃	۵-متیل سالیسیلیک اسید

اندازه گیری میزان اسید سالیسیلیک داخلی گیاه بوسیله

دستگاه HPTLC

روش دنسیتومتری که قبلاً توسط کرزک و استارک (۱۱) برای شناسایی و اندازه گیری سریع و دقیق استیل سالیسیلیک اسید، آسکوربیک اسید و سالیسیلیک اسید استفاده شده بود در این آزمایش بکار گرفته شد. ۱۰ روز پس از تیمار با مواد شیمیایی از برگها نمونه برداری صورت گرفت. مقدار ۰/۵ گرم از بافت هر نمونه در ۲۰ میلی لیتر متانول خالص کوبیده و له شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه سونیک گردید. سپس عصاره های بدست آمده فیلتر شد و محلول حاصل در شرایط خلاء تبخیر شد. مواد جامد باقی مانده مجدداً در ۵ میلی لیتر محلول ۳-فلورواستیک اسید حل شد. محتوی SA آزاد درون عصاره دوبار با استفاده از ۱۰ میلی لیتر استیل استات: سیکلو هگزان: ایزوپروپانول (۷/۱۷: ۵۰: ۵۰) استخراج شد. در نهایت فاز آلی محلول برداشته شد و مایع آن تبخیر شد و مجدداً در ۱ میلی لیتر استون حل گردید. عصاره برگهای گیاهان تیمار شده و تیمار نشده گوجه فرنگی به منظور اندازه گیری میزان SA آزاد درون بافت آزمایش شدند. بدین منظور از دستگاه روبشگر ۳ TLC CAMAG استفاده شد. دنسیتومتری در محدوده طول موج ۲۸۰nm انجام شد (۱۱).

روشهای آماری

تمام آزمایشات با استفاده از طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. مقایسه میانگینها بوسیله آزمون Duncan صورت گرفت. ضریب همبستگی بین میزان تجمع SA آزاد و کاهش شاخص های بیماری با استفاده از آزمون رگرسیون تعیین شد.

نتایج

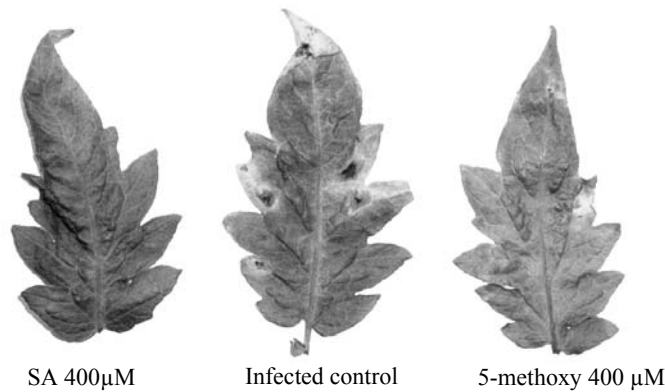
نتایج حاصل از آزمایشهای گلخانه‌ای و آزمایشگاهی نشان داد

که مساحت لکه‌های نکروزه ناشی از آلوده سازی بوته‌های گوجه فرنگی با قارچ *A. alternata* f. sp. *lycopersici* بطور معنی داری ($P \leq 0/05$) در بوته هایی که ۳ روز قبل بوسیله SA و بعضی مشتقات آن مانند ۵-متوکسی سالیسیلیک اسید و ۴-کلرو سالیسیلیک با غلظت ۴۰۰ μM محلول پاشی شده بودند در مقایسه با شاهد آلوده کاهش یافت اما از نظر تعداد لکه‌های نکروزه، اختلاف معنی داری بین گیاهان تیمار شده با ترکیبات شیمیایی و شاهد آلوده وجود نداشت (شکل ۱ و جدول ۲). داده های بدست آمده از کاربرد غلظتهای مختلف مواد شیمیایی ذکر شده نشان داد که کاربرد غلظت ۲۰۰ μM مواد شیمیایی در القاء مقاومت مؤثر نیست. در عین حال کاربرد برگی غلظت ۴۰۰ μM از SA و برخی مشتقات مورد استفاده سبب افزایش معنی دار میزان SA داخلی برگها گردید. اگرچه استفاده از غلظت ۵۰۰ μM همه مواد سبب کاهش معنی دار مساحت لکه های نکروزه گردید اما همچنین سبب ایجاد کلروز در گیاهان تیمار شده گشت. استفاده از سایر مشتقات از جمله ۵-کلروسالیسیلیک اسید، ۳-دی نیتروسالیسیلیک اسید منجر به کاهش شاخص بیماری در گیاهان تیمار شده نگردید. نتایج حاصل از بررسی برگهای بریده بوسیله میکروسکوپ نشان داد دیواره تک سلولهای نکروز شده در اثر واکنش فوق حساسیت در گیاهان تیمار شده با غلظت ۴۰۰ μM از SA کاملاً قهوه ای و درحال چوب پنبه ای شدن بودند (شکل ۲) تعداد این لکه‌ها ی تک سلولی نسبت به تعداد کل لکه‌ها در گیاهان تیمار شده با SA در مقایسه با شاهد آلوده بطرز معنی داری ($p \leq 0/05$) بیشتر بود (داده‌ها نشان داده نشده اند). نتایج بدست آمده از آزمایشات مربوط به HPTLC نشان داد که همبستگی بالایی بین افزایش میزان SA آزاد داخلی و کاهش سطح لکه‌ها ($r^2=0/59$) و نیز کاهش تعداد لکه‌های نکروز ($r^2=0/82$) وجود دارد (شکل ۳).

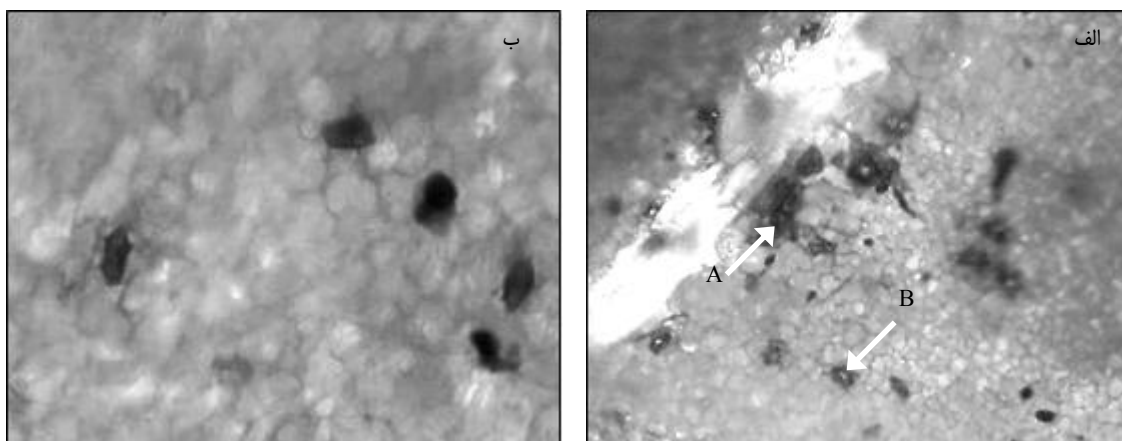
(جدول ۲) - اثر کاربرد مواد با غلظت $400 \mu\text{M}$ در مساحت و تعداد لکه های نکروزه ناشی از آلترناریوز در مقایسه با میزان SA داخلی بافت

تیمار	میانگین مساحت لکه های نکروز (mm^2)	میانگین SA (وزن تر $\mu\text{gSA/g}$)	میانگین تعداد لکه های نکروز
۵-کلروسالیسیلیک اسید	۱۱/۶۸ A	۸/۳۳ A	۲۰ A
شاهد آلوده	۱۰/۳۱ AB	۸/۷ A	۱۷/۷۵A
۵-آمینوسالیسیلیک اسید	۸/۶۸ ABC	۹/۱۶ A	۱۰/۷۵ AB
۵-متیل سالیسیلیک اسید	۷/۱۲ BCDE	۸/۴ A	۱۵/۷۵ A
۳-۵دی نیتروسالیسیلیک اسید	۵/۸۱ BCDE	۸/۴۶ A	۱۴/۲۵ A
۴-کلروسالیسیلیک اسید	۴/۵ CDE	۹/۶۶ A	۱۱/۵ AB
۵-متوکسی سالیسیلیک اسید	۳/۲۱ DEF	۱۲/۲ A	۷/۷۵ AB
سالیسیلیک اسید	۲/۲۵ EF	۱۰/۳۶ A	۱۰/۲۵ AB
شاهد سالم	۰ F	۳/۴ B	۰ B

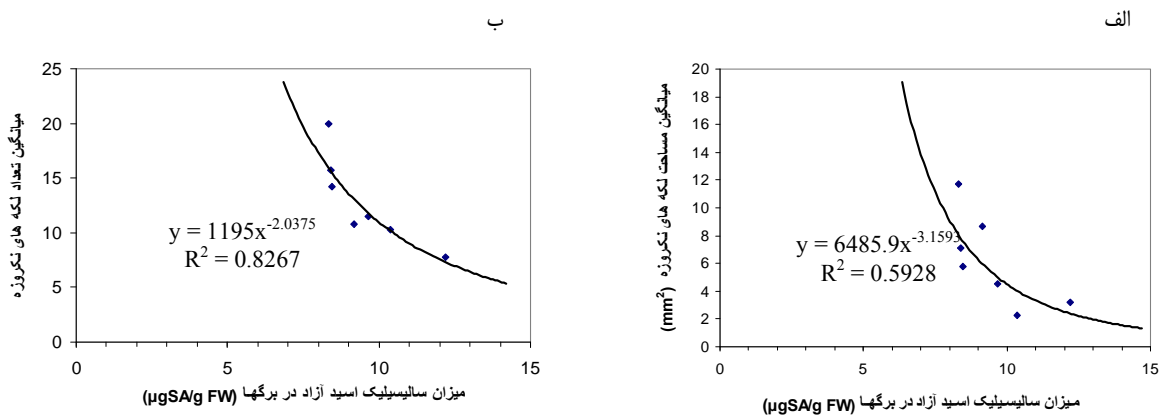
میانگین های هر ستون که دارای حروف مشترک هستند با یکدیگر اختلاف معنی داری ندارند ($p \leq 0.05$).



(شکل ۱) - نتایج آزمایش گلخانه ایی اثر کاربرد SA و ۵-متوکسی سالیسیلیک اسید با غلظت $400 \mu\text{M}$ روی گوجه فرنگی در مقایسه با شاهد در کنترل بیماری ناشی از *Alternaria*



(شکل ۲) - الف: لکه های متداول ناشی از قارچ (A) در مقایسه با لکه های HR (B) ($20 \times$)
ب: لکه های نکروزه تک سلولی ناشی از واکنش HR ($20 \times$)



(شکل ۳) - نمودار همبستگی بین افزایش میزان SA داخلی موجود در برگها و الف: کاهش مساحت لکه ها ب: کاهش تعداد لکه های نکروزه در تیمارهای مختلف

بحث

در سالهای اخیر استفاده از روشهای غیر شیمیایی در مدیریت بیماریهای گیاهی مورد توجه قرار گرفته است. وایت (۲۱) نشان داد که کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید در توتون می تواند موجب القاء مقاومت سیستمیک (SAR) در گیاه علیه ویروس موزاییک گردد. این موضوع این احتمال جالب را برمی انگیزد که با استفاده از SA ممکن است واکنش بطور معمول سازگار آلترناریا-میزبان به حالت ناسازگار آن تبدیل شود. این سوال مطرح می شود که آیا SA می تواند به عنوان یک مولکول انتقال پیام در برهم کنش گوجه فرنگی - آلترناریا نیز محسوب گردد؟

کاربرد غلظتهای مختلف مواد شیمیایی نشان داد که غلظت ۲۰۰µM SA و بعضی مشتقات آن اثری در القاء مقاومت سیستمیک ندارند. اما اسپلتزر و اینیدی (۱۵) نشان دادند که افزودن غلظت ۲۰۰µM از SA به مایع غذایی کشت هیدروپونیک سبب افزایش چشمگیر میزان SA داخلی برگهای گوجه فرنگی می شود، و نیز توانسته است موجب القاء مقاومت در برابر قارچ *A. solani* گردد. علت این عدم تطابق در یافته ها می تواند ناشی از دو روش مختلف بکارگیری SA و در مرحله بعد تفاوت در گونه های قارچ مورد استفاده باشد. در تحقیق حاضر کاربرد برگی غلظت ۴۰۰µM SA و برخی مشتقات آن مانند؛ ۵-متوکسی سالیسیلیک اسید و ۴-کلرو سالیسیلیک اسید سبب افزایش معنی دار میزان SA داخلی برگها گردید (جدول ۲). همچنین نتایج حاصل از آزمایش های گلخانه ایی نشان داد که میزان نفوذ پاتوژن در تمام تیمارها یکسان نبود و در محل نفوذ پاتوژن از نظر ایجاد واکنش فوق حساسیت اختلاف معنی داری بین گیاهان تیمار شده با SA و گیاهان شاهد آلوده وجود داشت.

در گیاهان تیمار شده با SA تعداد نفوذها زیاد ولی مساحت لکه های نکروزه در مقایسه با گیاهان شاهد کمتر بود. این پدیده احتمالاً بدلیل بروز واکنش فوق حساسیت است که در مقاومت به بیماری گیاهی پدیده ای متفاوت است و با مرگ سریع سلولها در ناحیه محل نفوذ و محدود کردن گسترش پاتوژن مشخص می شود.

گزارشاتی وجود دارد مبنی بر اینکه تیمار گیاهان با SA علیه قارچ *Alternaria* علاوه بر گوجه فرنگی در روی سایر گیاهان نیز مؤثر بوده است (۱۵، ۴، ۲۰). اسپلتزر و اینیدی (۱۵) نشان دادند که با استفاده از SA بصورت اضافه کردن محلول آن در مایع غذایی کشت هیدروپونیک مقاومت سیستمیک علیه *A. solani* القاء می گردد. همچنین القاء مقاومت نسبت به *A. cassia* در *C. obtusifolia* (sicklepod با محلول پاشی محلول سالیسیلیک اسید با غلظت ۱۰۰۰µM روی شاخ و برگ مشاهده شده است (۲۰). این گزارشها داده های بدست آمده در این تحقیق را مبنی بر کاهش علائم بیماری بوجود آمده در اثر پیش تیمار SA تأیید می کند. کاربرد برگی آراکیدونیک اسید در سیب زمینی باعث القاء مقاومت از نوع SAR نسبت به بیماری حاصل از *A. solani* می شود (۴). همچنین مشخص شده است که آراکیدونیک اسید سبب افزایش میزان اسید سالیسیلیک آزاد درون سیب زمینی شده است (۴) که این نتیجه با یافته های این تحقیق که ایجاد مقاومت سیستمیک اکتسابی (SAR) در گوجه فرنگی وابسته به میزان SA داخلی است تطابق دارد. اگرچه استفاده از غلظت ۵۰۰µM همه مواد سبب کاهش معنی دار مساحت لکه های نکروزه گردید اما همچنین سبب ایجاد کلروز در گیاهان تیمار شده گشت. نتایج مشابهی توسط اسپلتزر و اینیدی (۱۵) بدست آمده که نشان می دهد استفاده از این غلظت (۵۰۰µM) در کشت هیدروپونیک سبب کاهش فشار تورژسانس برگ و ایجاد حالت

پژمردگی در گیاه گوجه فرنگی می شود.

نتایج بدست آمده نشان دادند که توانایی یک ترکیب در تجمع SA با توانایی آن در القاء مقاومت در گوجه فرنگی علیه آلترناریوز مرتبط است (جدول ۲) که با نتایج بدست آمده توسط اسپلتزر و اینیدی (۱۵) مطابقت دارد. این محققین نشان دادند که اضافه کردن SA $200 \mu\text{M}$ به سیستم ریشه بطرز معنی داری میزان SA داخلی برگها را افزایش داده و منجر به کاهش ۷۷٪ مساحت لکه های نکروز (ناشی از *A. solani*) در مقایسه با گیاهان تیمار نشده با SA شده است. با این وجود توما و همکاران (۱۷، ۱۸) دریافتند که نه SA و نه اتیلن مستقیماً در ایجاد مقاومت علیه آلترناریوز در گیاه آراییدوپسیس دخالت ندارند. این تعارض ممکن است بدلیل تفاوت در نوع تعامل گیاه و میزبان باشد که خود ناشی از تفاوت میزبان و پاتوژن مورد آزمایش در این سیستم می باشد.

در مجموع یافته های حاصل از این تحقیق نشان می دهد که مقاومت القایی ممکن است بعنوان روش قابل جایگزین در کنترل بیماری شانکر ساقه گوجه فرنگی قابل توصیه باشد. از طرفی استفاده از سایر مشتقات سالیسیلیک اسید (۵-متوکسی سالیسیلیک اسید و ۴-کلرو سالیسیلیک اسید) سبب افزایش میزان SA داخلی در برگهای گوجه فرنگی شده که نشان می دهد پاسخ القاء شده در گیاه مختص SA نبوده و بنابراین ممکن است ابزار دیگری برای القاء SAR را در اختیار محققین و احتمالاً در آینده ای نه چندان دور در اختیار کاربران بخش کشاورزی قرار دهد. استفاده از سایر مشتقات از جمله ۵-کلروسالیسیلیک اسید، ۳و۵-دی نیتروسالیسیلیک اسید منجر به

تجمع SA درون بافت گیاهان تیمار شده نگردید. نتایج بدست آمده از آزمایشات مربوط به HPTLC نشان داد که همبستگی بالایی بین افزایش میزان SA آزاد داخلی و کاهش مساحت و تعداد لکه ها وجود دارد. این نتایج با یافته های بدست آمده از سایر تحقیقات که هرگونه اختلال در توانایی تجمع سالیسیلیک اسید در گیاه را منجر به فقدان بیان ژنهای پروتئینهای مرتبط با بیماریزایی و پاسخ SAR می دانند، مطابقت دارد (۷، ۱۲، ۱۹).

این اولین گزارش از القاء مقاومت سیستمیک اکتسابی علیه عامل شانکر ساقه گوجه فرنگی است که در اثر کاربرد خارجی سالیسیلیک اسید، ۵-متوکسی سالیسیلیک اسید و ۴-کلرو سالیسیلیک اسید القاء شده است. مطالعات بیشتر در روی ارقام مختلف گوجه فرنگی به منظور تعیین دقیقتر نقش این القاء کننده های شیمیایی و پاسخ مقاومتی وابسته به SA در گوجه فرنگی در دست انجام است.

سپاسگزاری

بدینوسیله از کمک مالی صندوق پژوهشگران کشور و نیز حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه بو علی سینا- همدان در جهت انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می گردد. از ریاست محترم پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی بخاطر کمک در انجام آنالیز میزان سالیسیلیک اسید داخلی بافت های گیاهی کمال قدردانی را دارد.

منابع

- ۱- شهریار د، روزبهانی کریمی، ع. ۱۳۷۷. شیوع بیماری شانکر ساقه گوجه فرنگی در ورامین. خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاه پزشکی، کرج، ایران، ص. ۱۸۲.
- 2- Arie T., Takahshi H., Kodama M., and Teraoka T. 2007. Tomato as a model plant for plant-pathogen interactions. *Plant Biotechnology*, 24:135-147.
- 3- Colson-Hanks E.S. and Deverallt B.J. 2000. Effect of 2,6-dichloroisonicotinic acid, its formulation materials and benzothiazole on systemic resistance to *Alternaria* leaf spot in cotton. *Plant Pathology*, 49:171-178.
- 4- Coquoz J.L., Buchala A.J., Meuwly P., and Metraux J.P. 1995. Arachidonic acid induces local but not systemic synthesis of salicylic acid and confers systemic resistance in potato plants to *Phytophthora infestans* and *Alternaria solani*. *Phytopathology*, 85: 1219-1224.
- 5- Durner J., Shah J., and Klessig D.F. 1997. Salicylic acid and disease resistance in plants. *Trends Plant science*, 2:266-274.
- 6- Durrant W.E., and Dong X. 2004. Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 42: 185-209.
- 7- Gaffney T., Friedrich L., Vernooj B., Negrotto D., Nye G., Uknes S., Ward E., Kessmann H. and Ryals J. 1993. Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance. *Science*. 261: 754-756.
- 8- Gozzo F. 2003. Systemic acquired resistance in crop protection: from nature to a chemical approach. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51:4487 - 4503.
- 9- Grant M. and Mansfield J. 1999. Early events in host-pathogen interactions. *Current Opinion in Plant Biology*, 2: 312 - 319.
- 10- Kessmann H., Staub T., Hofmann C., Maetzke T. and Herzog J. 1994. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. *Annual Review of Phytopathology*, 32:439-459.
- 11- Krzek, J. and Starek M. 1999. Densitometric determination of active constituents and impurities in complex

- analgesic and antipyretic pharmaceuticals. *Journal of Planar Chromatography*, 5:356-360.
- 12- Lawton K.A., Friedrich L., Hunt M., Weymann K., Delaney T., and Kessmann H. 1996. Benzothiadiazole induces resistance in *Arabidopsis* by activation of the systemic acquired resistance signal transduction pathway. *Plant Journal*, 10:71-82.
 - 13- Malamy J., Carr J., Kessig D., Raskin I. 1990. Salicylic acid: a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. *Science*, 250:1002-1004.
 - 14- Ryals J., Uknes S., and Ward E. 1994. Systemic acquired resistance. *Plant Physiology*. 104: 1109-1112.
 - 15- Spletzer M.E., and Enyedi A.J. 1999. Salicylic acid induces resistance to *Alternaria solani* in hydroponically grown tomato. *Phytopathology*, 89:722-727.
 - 16- Thomma B.P.H.J. 2003. *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite". *Molecular Plant Pathology*, 4(4): 225-236.
 - 17- Thomma B.P.H.J., Nelissen I., Eggermont K. and Broekaert W.F. 1999b. Deficiency in phytoalexin production causes enhanced susceptibility of *Arabidopsis thaliana* to the fungus *Alternaria brassicicola*. *Plant Journal*, 19:163-171.
 - 18- Thomma B.P.H.J., Eggermont K., Penninckx I.A.M.A., Mauch-Mani B., Vogelsang R., Cammue B.P.A. and Broekaert W.F. 1998. Separate jasmonate-dependent and salicylate-dependent defense response pathways in *Arabidopsis* are essential for resistance to distinct microbial pathogens. *Proceeding of National academic Science USA*, 95:15107 - 15111.
 - 19- Vernooij B., Friedrich L., Morse A., Reist R. and Kolditz-Jawhar R. 1994. Salicylic acid is not the translocated signal responsible for inducing systemic acquired resistance but is required in signal transduction. *Plant Cell*, Vol: 6, 959-65
 - 20- Weete J.D. 1992 Induced systemic resistance to *Alternaria cassiae* in sicklepod. *Physiological and Molecular Plant pathology*, 40:437-445.
 - 21- White R.F. 1979. Acetylsalicylic acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco. *Virology*, 99:410-412.
 - 22- Yalpani N., Silverman P., Wilson T.M.A., Kleier D.A. and Raskin L. 1991. Salicylic acid is a systemic signal and an inducer of pathogenesis-related proteins in virus-infected tobacco. *Plant Cell*, 3:809-818.