

بررسی تأثیر سالیسیلیک اسید بر روی فعالیت آنزیمهای پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز در گیاه سیب‌زمینی آلوده به قارچ *Rhizoctonia solani*

محمد رضا هادی^{۱*}، مجتبی جعفری‌نیا^۱ و غلامرضا بلالی^۲

^۱ مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم گیاهی، گروه زیست‌شناسی

^۲ اصفهان، دانشگاه اصفهان، گروه پژوهشی بیوتکنولوژی سیب‌زمینی

تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۲۶

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۲۰

چکیده

در این تحقیق اثر سالیسیلیک اسید به منظور کاهش بیماری‌زایی قارچ رایزوکتونیا سولانی بر روی فعالیت آنزیمهای پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز در رقم سیب‌زمینی آگریا در شرایط گلخانه‌ای بررسی شد. دو هفته قبل از کاشت ریزغده‌های سیب‌زمینی، خاک استریل‌گلدانها در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با قارچ رایزوکتونیا سولانی آلوده شدند. تیمار سالیسیلیک اسید در مرحله ۷-۸ برگی با غلظتهای صفر (شاهد یا کنترل)، ۰/۲ و ۰/۵ میلی‌مولار هر هفته (مجموعاً چهار هفته) مطابق طرح آزمایش اعمال شد. بعد از اتمام تیمار اسید سالیسیلیک، میزان فعالیت آنزیمهای پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز در برگ تازه گیاهان سالم و آلوده سیب‌زمینی اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد با افزایش میزان اسید سالیسیلیک، میزان فعالیت آنزیمهای پراکسیداز و کاتالاز در گیاهان سیب‌زمینی سالم و آلوده یک روند کاهشی داشت. در صورتی که فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در این شرایط یک روند افزایشی را نشان داد. بنابراین به نظر می‌رسد به علت کاهش فعالیت آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز و تولید انواع اکسیژن فعال (H_2O_2 , OH^- , O_2) که برای قارچ سمی است، گیاه سیب‌زمینی با قارچ رایزوکتونیا سولانی مقابله می‌کند. همچنین ممکن است به علت افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز، مکانیسمهای دفاعی از جمله لیگنینی شدن و ایجاد پلهای عرضی هیدروکسی پرولین در دیواره سلولهای ریشه باعث مقاوم‌سازی بافتهای ریشه گیاه سیب‌زمینی در برابر قارچ رایزوکتونیا سولانی شود.

واژه‌های کلیدی: سیب‌زمینی، اسید سالیسیلیک، رایزوکتونیا سولانی، پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۷۱۳۷۳۰۰۴۰۵، پست الکترونیکی: hadi_mohammadreza@yahoo.com

مقدمه

به دلیل این است که پتانسیل باقی ماندن برای نسلها را داشته و نقش مهمی در تأمین امنیت غذایی و ریشه‌کنی فقر ایفاء می‌کند (۲۱). سیب‌زمینی از محصولات غده‌ای بسیار مهم در تغذیه مردم جهان می‌باشد و یک منبع انرژی ارزان محسوب می‌شود (۲۷) و به دلیل عملکرد بسیار بالا در واحد سطح، انرژی و تعداد پروتئین تولیدی آن از گندم و برنج نیز بیشتر است (۹). سیب‌زمینی در تولید چیپس (chips)، نشاسته و الکل استفاده می‌شود (۱۴). گیاه سیب

ساقه زیر زمینی گیاه سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum*) یعنی غده خوراکی آن دارای اهمیت است، به طوری که بعد از برنج، گندم و ذرت پرمصرف‌ترین ماده غذایی در جهان محسوب می‌شود (۲۰). هرچند در ایران سیب‌زمینی بعد از گندم و برنج، سومین محصول زراعی استراتژیک محسوب می‌شود. از نظر میزان تولید، سیب‌زمینی در جهان بعد از ذرت در مقاوم دوم قرار دارد (۳). به گزارش بخش کشاورزی و غذایی سازمان ملل متحد، اهمیت سیب‌زمینی

کاهش خسارتهای ناشی از قارچ رایزوکتونیا سولانی در سیب‌زمینی به میزان ۷۲ درصد می‌شود (۲۵). به علاوه تعداد غده‌های سیب‌زمینی با کاربرد سالیسیلیک اسید افزایش می‌یابد (۱۲). در گیاهان آراییدوپسیس با استفاده از سالیسیلیک اسید رادیواکتیو، آنزیم کاتالاز به عنوان اولین پروتئین متصل به سالیسیلیک اسید شناسایی شده است. آنزیم کاتالاز فعال به محض اتصال یافتن سالیسیلیک اسید به آن غیرفعال شده و منجر به یک افزایش در آب اکسیژنه (H_2O_2) درون سلولی می‌شود، بدین معنی که سالیسیلیک اسید از راه مهارکردن آنزیم کاتالاز عمل می‌کند. اعتقاد بر این است که تولید آب اکسیژنه در سلول با فعالیت بیان ژن دفاعی یا به عنوان یک سد آنتی میکروبی در محل هجوم عمل می‌کند (۲۸). در نهایت، چون قارچهای گیاهی هرساله مزارع مختلف را مورد تاخت و تاز قرار می‌دهند و خسارتهای جبران‌ناپذیری به این مزارع و در نهایت اقتصاد کشور وارد می‌کنند (۳۹). همچنین، سیب‌زمینی به عنوان یکی از منابع غذایی اصلی و ضروری کشور از اهمیت زیادی برخوردار است و مبارزه با عوامل بیماری‌زای سیب زمینی یکی از دغدغه‌های اصلی متولیان بخش کشاورزی است. به علاوه، یکی از مهم‌ترین راهکارهای مبارزه با قارچهای گیاهی استفاده از وارپته‌های مقاوم و یا بهبود مقاومت وارپته‌های موجود با استفاده از روشهای مختلف از جمله کاربرد مواد مؤثر در ایجاد مقاومت مانند سالیسیلیک اسید و مشتقات آن به صورت پاششی بر روی گیاه می‌باشد. از این‌رو مطالعه تأثیر اسید سالیسیلیک بر روی کاهش بیماری‌زایی قارچ رایزوکتونیا سولانی اهمیت دارد و از آنجایی که به نظر می‌رسد که سالیسیلیک اسید با دخالت آنزیمهای پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل‌اکسیداز اثرات بهبود دهنده خود را روی رشد گیاهان اعمال می‌کند، از این‌رو در این پژوهش اثر سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیمهای مذکور مطالعه شد.

مواد و روشها

زمینی با سطح زیر کشت در حدود ۲۲ میلیون هکتار در جهان و تولید ۳۰۰ میلیون تن در سطح محصولات غده‌ای قرار دارد. در حال حاضر در سطح جهانی مقدار زیادی از محصول سیب‌زمینی به تغذیه دام اختصاص داده می‌شود و حدود ۳۵ درصد به صورت سیب زمینی خوراکی و در حدود ۸ تا ۹ درصد برای سیب‌زمینی بذری مصرف می‌شود. سطح زیر کشت سیب‌زمینی در ایران بیش از ۱۴۶ هزار هکتار برآورد شده و مقدار تولید آن در حدود ۴/۳ میلیون تن با متوسط عملکرد ۲۲ تن در هکتار می‌باشد (۵).

Rhizoctonia solani یک قارچ بیماری‌زای خاک محسوب می‌شود که گیاهان زیادی از جمله گیاه سیب‌زمینی و برنج را به عنوان میزبان آلوده می‌کند (۲). در گیاه سیب‌زمینی این قارچ برای چند سال از طریق تولید یک فرآورده کوچک (یک تا سه میلی‌متر قطر) با شکل نامنظم و ساختاری به رنگ قهوه‌ای تا سیاه به نام اسکروت روی بافت غده سیب‌زمینی می‌تواند زنده باقی بماند و عامل بیماری Black scurf یا لکه سیاه بر روی غده‌های سیب‌زمینی است و به طور چشمگیری محصول سیب‌زمینی را کاهش می‌دهد (۲۵).

نام سالیسیلیک اسید (salicylic acid) از کلمه Salix به نام جنس درخت بید گرفته شده است (۳۴) و در واکنش به حمله طیف وسیعی از بیمارگرهای گیاهی همانند باکتریها، قارچها و ویروسها در گیاهان درگیر می‌باشد و به عنوان مهم‌ترین جزء در مقاومت اکتسابی سیستمیک به صورت غیراختصاصی باعث ایجاد مقاومت به عوامل بیماری‌زا می‌شود (۳۱). سالیسیلیک اسید مقاومت را به طور سیستمیک و با القای ژنهای مربوطه ایجاد می‌کند و این عمل را از طریق انواع اکسیژن فعال نظیر پراکسید هیدروژن (H_2O_2) انجام می‌دهد. به طوری که سالیسیلیک اسید فعالیت آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز را مهار می‌کند که باعث افزایش میزان پراکسید هیدروژن می‌گردد (۳۰). در این رابطه گزارش شده است که سالیسیلیک اسید باعث

(اسپرانتها) به خوبی از خاک آنها بیرون زده بودند و اندازه اسپرانت آنها یکسان بود، برای اجرای طرح آزمایش انتخاب شد.

تهیه قارچ و روش آلوده‌سازی گیاهان: قارچ رایزوکتونیا سولانی (*Rhizoctonia solani*) به صورت خالص و کشت‌شده بر روی آگار در دو ظروف پترییدی از گروه زیست‌شناسی دانشگاه اصفهان تهیه گردید. سپس آگار پتری‌دیشها را به قطعات یک سانتیمتر مربع تقسیم کرده و دو هفته قبل از کاشت غده‌های سیب زمینی در نقاط مختلف (حداقل پنج نقطه) در زیر خاک (استریل) در گلدانهای مورد آزمایش قرارداد شد (تیمار آلوده‌سازی خاک گلدانها مطابق با طرح آماری چند فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی انجام می‌گیرد و همه آنها آلوده نمی‌شوند). در واقع ۱۲ عدد از خاک گلدانها از ۲۴ عدد به طور کاملاً تصادفی به قارچ رایزوکتونیا سولانی آلوده شدند.

تیمار اسید سالیسیلیک: گیاهان در مرحله ۸-۷ برگی با غلظتهای صفر (شاهد یا کنترل)، ۰/۲، ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک خالص ($C_7H_6O_3$) مورد تیمار قرار گرفت. تیمارهای مذکور هر هفته (مجموعاً چهار هفته) به صورت اسپری یا پاششی بر روی برگهای گیاهان انجام شد.

روش اندازه‌گیری فعالیت آنزیمهای پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل‌اکسیداز: استخراج عصاره آنزیم: تهیه عصاره آنزیمی بر اساس روش Mac-Adam و همکاران (۱۹۹۲) انجام شد. برای تهیه عصاره آنزیمی ابتدا لازم است که محلولهای ۰/۸ مولار کلرید پتاسیم (KCl) و بافر فسفات سدیم ۰/۱ مولار (pH=7) به طور جدا گانه تهیه شود. سپس از هریک از این محلولها یک حجم معین برداشته و با هم مخلوط شوند (۵۰ میلی‌لیتر از محلول ۰/۸ مولار کلرید پتاسیم به اضافه ۵۰ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار). از محلول تهیه شده برای استخراج عصاره آنزیمی استفاده شد. سپس ۰/۱ گرم از بافت برگ تازه را با ۱۰ میلی‌لیتر از محلول مذکور در هاون چینی خوب سائیده و

تهیه و کاشت ریز غده‌های سیب زمینی: ابتدا تعداد ۵۰۰ عدد از ریزغده‌های سیب زمینی (*Solanum tuberosum*) رقم آگریا (Agria) نسل اول که گاهی به آن سوپرالیته (Super Elite) گفته می‌شود (ریزغده‌های حاصل از گیاهچه‌های عاری از هرگونه بیماری به دست آمده از کشت بافت) از گروه بیوتکنولوژی سیب زمینی دانشگاه اصفهان تهیه شد. پس از تهیه ریزغده‌های سیب زمینی رقم آگریا، برای تسریع در جوانه زنی ریزغده‌ها از تیمار هورمون جیبرلین استفاده گردید. روش کار بدین صورت بود که ریزغده‌های سیب زمینی رقم آگریا پس از شستشو با آب مقطر در محلول 2ppm (۲ میلی‌گرم جیبرلین خالص در یک لیتر آب مقطر) به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد. سپس ریزغده‌های سیب زمینی تیمار شده با هورمون جیبرلین در دمای آزمایشگاه (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) برای جوانه زنی قرار داده شد. از آنجایی که تیمار هورمون جیبرلین باعث تسریع در جوانه زنی ریزغده‌های سیب زمینی می‌گردد (۳۲)، یک هفته بعد از تیمار جیبرلین، ریزغده‌های سیب زمینی جوانه زدند. سپس ریزغده‌های یکسان و جوانه زده و دارای اسپرانت (Sprout) برای کاشت انتخاب شد. برای کاشت این ریزغده‌ها از گلدانهای پلاستیکی به حجم سه لیتر استفاده گردید (۱۶). تعداد ۵۰ عدد از گلدانها حاوی خاک پیت ماس (Peat Moss) استریل‌شده (پیت ماس یا تورب در حقیقت بقایای خزه و جلبک هست که به شکل پودر درآمده است) برای این منظور استفاده گردید و در خاک هر یک از این گلدانها یک ریزغده سیب زمینی جوانه زده (دارای اسپرانت) قرار داده شد. سپس گلدانها جهت رشد در شرایط مناسب یعنی تحت نور با لامپهای LED (= Light-Emitting Diode) LED Lamp با شدت نوری برابر با ۳۰۰۰ لوکس (lux) و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد در شب (تاریکی) تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز (روشنایی) قرار داده شدند. سپس تعداد ۲۴ عدد از گلدانهایی که جوانه‌های ریزغده

آخرین عدد جذبی را از اولین عدد جذبی خوانده شده کم کرده و بر عدد ۴ تقسیم شد (۳۵).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز: اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Maehley و Chance (۱۹۵۵) انجام شد (۱۷). برای این کار ۱ میلی‌لیتر از عصاره آنزیمی با ۳۰۰۰ میکرومول بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH=7 و ۱۰۰ میکرومول آب اکسیژنه (H_2O_2) خالص مخلوط شدند. و این محلول برای مدت یک دقیقه در دمای آزمایشگاه (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت. سپس برای توقف فعالیت آنزیم کاتالاز، مقدار ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۲ درصد به مخلوط اضافه شد. سپس توسط پرمنگنات پتاسیم ($KMnO_4$) ۰/۰۱ مولار تا تشکیل رنگ صورتی کم رنگ (حداقل ۳۰ ثانیه با رنگ ثابت) تیتراژ شد و بعد فعالیت آنزیم کاتالاز بر حسب حجم مصرفی محلول پرمنگنات پتاسیم بر حسب درصد کنترل محاسبه گردید. در این واکنش آب اکسیژنه یا پراکسید هیدروژن (H_2O_2) توسط آنزیم کاتالاز موجود در عصاره آنزیمی به آب و اکسیژن تبدیل می‌شود. برای توقف آزمایش از اسید سولفوریک استفاده می‌شود. باقی مانده پراکسید هیدروژن با پرمنگنات پتاسیم واکنش داده و رنگ صورتی کم رنگ به وجود می‌آید. بنابراین هرچه میزان حجم مصرفی محلول پرمنگنات پتاسیم بیشتر باشد، به مفهوم آن است که آنزیم کاتالاز موجود در عصاره آنزیمی فعالیت کمتری داشته است و مقدار پراکسید هیدروژن به مقدار زیادتری در محلول باقی مانده است. به عکس، هرچه میزان حجم مصرفی محلول پرمنگنات پتاسیم کمتر باشد، به مفهوم آن است که آنزیم کاتالاز موجود در عصاره آنزیمی فعالیت بیشتری داشته است و مقدار پراکسید هیدروژن به مقدار کمتری در محلول باقی مانده است.

آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها بر اساس نرم افزار آماری SPSS و مقایسه میانگینها بر اساس آزمون دانکن و LSD در سطح ۵ درصد انجام شد.

مخلوط حاصل را با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ کرده و مایع فوقانی به عنوان عصاره آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت. به منظور حفظ فعالیت آنزیم، کلیه مراحل استخراج آنزیم در ظرف یخ انجام شد (۲۹).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز: برای این منظور از روش Mac-Adam و همکاران (۱۹۹۲) استفاده شد. برای این کار، به عصاره آنزیمی، ۳ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات سدیم ۰/۱ مولار و ۵۰ میکرولیتر مایع گایاکول (Guaiacol) خالص با فرمول شیمیایی ($C_7H_8O_2$) و بعد ۵۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسید ۳ درصد (H_2O_2) اضافه شد و بلافاصله تغییرات جذب نوری در طول موج ۴۳۶ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در فواصل زمانی ۱۵ ثانیه به مدت ۳ دقیقه ثبت گردید. بعد از اضافه کردن آب اکسیژنه و ترکیب گایاکول محلول به رنگ قرمز مایل به قهوه‌ای درآمد. برای محاسبه فعالیت آنزیم پراکسیداز، آخرین عدد جذبی را از اولین عدد جذبی خوانده شده کم کرده و بر عدد ۳ تقسیم می‌گردد (۲۹).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز: اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز به روش Raymond و همکاران (۱۹۹۳) انجام شد. برای این کار به تعداد نمونه‌ها (۲۴ عدد)، لوله‌های آزمایش در حمام آب گرم در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و بعد به هر لوله آزمایش ۲/۵ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات ۰/۲ مولار با pH=۶/۸ و ۰/۲ میلی‌لیتر پیروگال (Pyrogallol) ۰/۰۲ مولار اضافه کرده و به آنها فرصت داده شد تا به دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد برسند. در لحظه خواندن جذب آنزیم، به هر لوله ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه کرده و تغییرات جذب پلی‌فنل‌اکسیداز در فاصله زمانی ۴ دقیقه در طول موج ۴۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت گردید. سپس برای محاسبه فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز

نتایج

رایزوکتونیا سولانی بر روی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز معنی‌دار نبود.

اثر قارچ رایزوکتونیا سولانی: مقایسه میانگین‌های فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی بر اساس آزمون دانکن در جدول ۲ نشان می‌دهد که میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز در گیاهان سیب زمینی رقم آگریا سالم نسبت به گیاهان آلوده به قارچ رایزوکتونیا سولانی به طور معنی‌داری بیشتر است. که با نتایج Goyal و همکاران (۲۰۱۳) در گیاه سیب زمینی (۲۴) همخوانی نشان می‌دهد.

تأثیر آلودگی قارچی و سالیسیلیک اسید در سیب زمینی: نتایج آنالیز واریانس در جدول ۱ نشان می‌دهد که اثر تیمار قارچ رایزوکتونیا سولانی بر روی فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز در سطح ۱ درصد معنی‌دار است، هرچند که تیمار قارچی بر روی فعالیت آنزیم کاتالاز تأثیر معنی‌داری ندارد. همچنین اثر تیمار سالیسیلیک اسید بر روی فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. از طرف دیگر، اثر متقابل تیمار اسید سالیسیلیک و تیمار قارچ

جدول ۱- آنالیز واریانس برای فعالیت آنزیم پراکسیداز، فعالیت آنزیم کاتالاز و فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در رقم سیب‌زمینی آگریا در دو تیمار (گیاهان سالم و گیاهان آلوده به قارچ رایزوکتونیا سولانی) و سه تیمار سالیسیلیک اسید (صفر یا شاهد، ۰/۲، ۰/۵ و میلی‌مولار)

منابع تغییر	df	فعالیت آنزیم پراکسیداز	فعالیت آنزیم کاتالاز	فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز
اثر تیمار قارچی (R)	۱	۰/۰۱۴***	۳۳۷/۵۰۰ ns	۰/۰۰۲***
اثر تیمار سالیسیلیک اسید (SA)	۳	۰/۰۱۱***	۱۰۵۶/۲۵۰***	۰/۰۰۴***
اثر متقابل R* SA	۳	۰/۰۰۱ ns	۲۸/۴۷۲ ns	۰/۰۰۰ ns
خطا	۱۶	۰/۰۰۶	۲۰۹۵/۸۳۳	۰/۰۰۱

علائم *** و *: به ترتیب معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد و ۵ درصد و علامت ns معنی‌دار نبودن (not significant) را نشان می‌دهند.

جدول ۲- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز در گیاهان سیب‌زمینی آلوده به قارچ رایزوکتونیا سولانی نسبت به گیاهان سالم بر اساس آزمون دانکن

صفات مورد ارزیابی	گیاهان سیب‌زمینی		خطای استاندارد (SE)
	آلوده به قارچ	سالم (عاری از آلودگی)	
فعالیت آنزیم پراکسیداز (تغییرات جذب در ۴۳۶ نانومتر در دقیقه)	۰/۱۵۸ b	۰/۲۰۶ a	± ۰/۰۰۶
فعالیت آنزیم کاتالاز (درصد کنترل)	۴۳/۷۵۰ a	۵۱/۲۵۰ a	± ۳/۳۰۴
فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (تغییرات جذب در ۴۳۰ نانومتر در دقیقه)	۰/۱۲۵ b	۰/۱۴۵ a	± ۰/۰۰۳

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهد.

علاوه، با افزایش میزان اسید سالیسیلیک، میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز یک روند کاهشی داشت (شکل‌های ۱ و ۲). نتایج این تحقیق با نتایج Durner و Klessing (۱۹۹۵) و همچنین با نتایج Vieira و همکاران (۲۰۱۰) همخوانی نشان می‌دهد (۱۹ و ۴۱) ولی

اثر سالیسیلیک اسید: مقایسه میانگین‌های فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی بر اساس آزمون دانکن در جدول ۳ نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در گیاهان شاهد (کنترل) کسب گردید و کمترین میزان آنها در غلظت یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک مشاهده شد. به

کسب گردید و کمترین میزان آن در گیاهان شاهد (کنترل) مشاهده شد. به علاوه، با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک یک روند افزایشی در فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در برگ گیاهان سیب زمینی (سالم و آلوده) مشاهده می‌شود که با نتایج ناصری نصب و همکاران (۱۳۹۱) و همچنین با نتایج Ahmed (۲۰۱۰) همخوانی نشان می‌دهد (۱۰ و ۱۳).

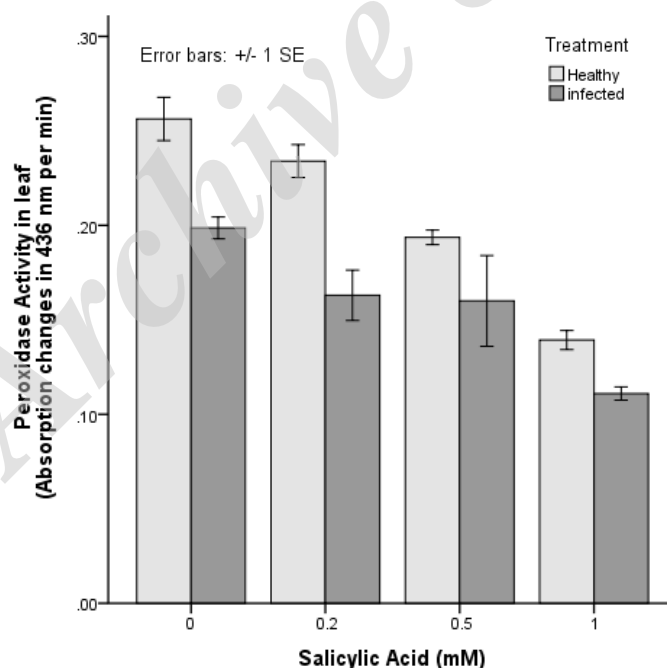
با نتایج تحقیقات Jaafar و Ghasemzadeh (۲۰۱۲) که در گیاهان زنجبیل (*Zingiber officinale*) انجام شده است، همخوانی نشان نمی‌دهد (۲۳). از طرف دیگر، مقایسه میانگینهای فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز بر اساس آزمون دانکن نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در غلظت یک میلی‌مولار اسید سالیسیلیک

جدول ۳- مقایسه میانگین فعالیت آنزیمهای پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل‌اکسیداز در گیاهان سیب‌زمینی تحت تیمار سالیسیلیک اسید بر اساس آزمون

دانکن

خطای استاندارد (SE)	غلظت سالیسیلیک اسید (میلی‌مولار)				صفات مورد ارزیابی
	شاهد (۰)	۰/۲	۰/۵	۱	
± ۰/۰۰۸	۰/۲۲۸ a	۰/۱۹۹ b	۰/۱۷۷ b	۰/۱۲۵ c	فعالیت آنزیم پراکسیداز (تغییرات جذب در ۴۳۶ نانومتر در دقیقه)
± ۴/۶۷۲	۶۲/۵۰ ab	۵۲/۵۰ bc	۴۳/۷۵ bc	۳۱/۲۵ cd	فعالیت آنزیم کاتالاز (درصد کنترل)
± ۰/۰۰۵	۰/۱۰۸ b	۰/۱۲۱ b	۰/۱۴۹ a	۰/۱۶۲ a	فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (تغییرات جذب در ۴۳۰ نانومتر در دقیقه)

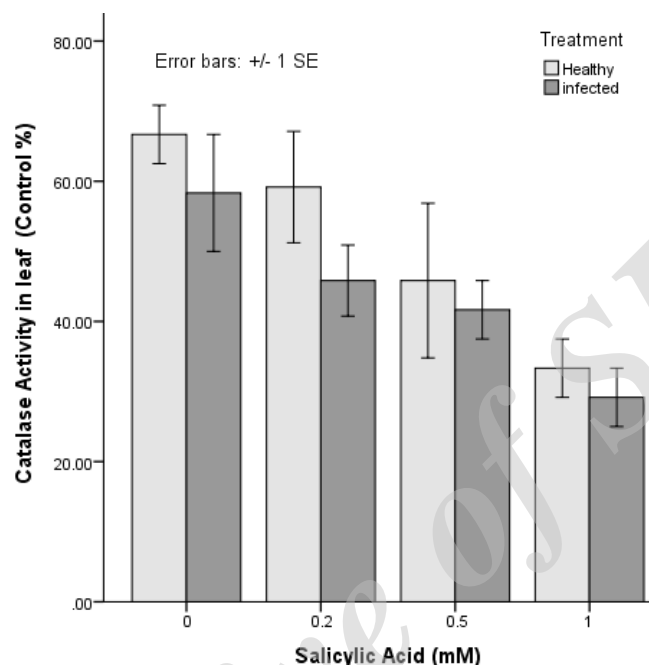
حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهد.



شکل ۱- مقایسه فعالیت آنزیم پراکسیداز (برحسب جذب تغییرات آن در طول موج ۴۳۶ نانومتر در دقیقه) در برگ گیاهان سیب‌زمینی رقم آگریا سالم و آلوده به قارچ رایزوکتونیا سولانی در غلظتهای مختلف سالیسیلیک اسید

ستونهای کم‌رنگ گیاهان سالم (Healthy) و ستونهای پررنگ گیاهان آلوده به قارچ رایزوکتونیا سولانی (Infected) را نشان می‌دهد. خط بار (Line Bar) بر روی ستونها خطای استاندارد (SE) را بر اساس آزمون LSD نشان می‌دهد (مقادیر، میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد می‌باشد).

وجود این، بررسی روند افزایشی یا کاهشی میزان این پارامترها بر اساس آزمون LSD در فهمیدن رابطه با نقش آنها در چگونگی مقاومت گیاه در مقابل با عوامل قارچی در بخش جمع‌بندی نتایج کمک خواهد کرد؛ از این رو نمودارهای مربوطه در شکل‌های ۱، ۲ و ۳ ارائه شده است.



شکل ۲- مقایسه فعالیت آنزیم کاتالاز برگ بر حسب درصد کنترل در گیاهان سیب‌زمینی رقم آگریا سالم و آلوده به قارچ رایزوکتونیا سلولانی در غلظت‌های مختلف سالیسیلیک اسید

ستون‌های کم‌رنگ گیاهان سالم (Healthy) و ستون‌های پررنگ گیاهان آلوده به قارچ رایزوکتونیا سلولانی (Infected) را نشان می‌دهد. خط بار (Line Bar) بر روی ستون‌ها خطای استاندارد (SE) را بر اساس آزمون LSD نشان می‌دهد (مقادیر، میانگین سه تکرار ± خطای استاندارد می‌باشد).

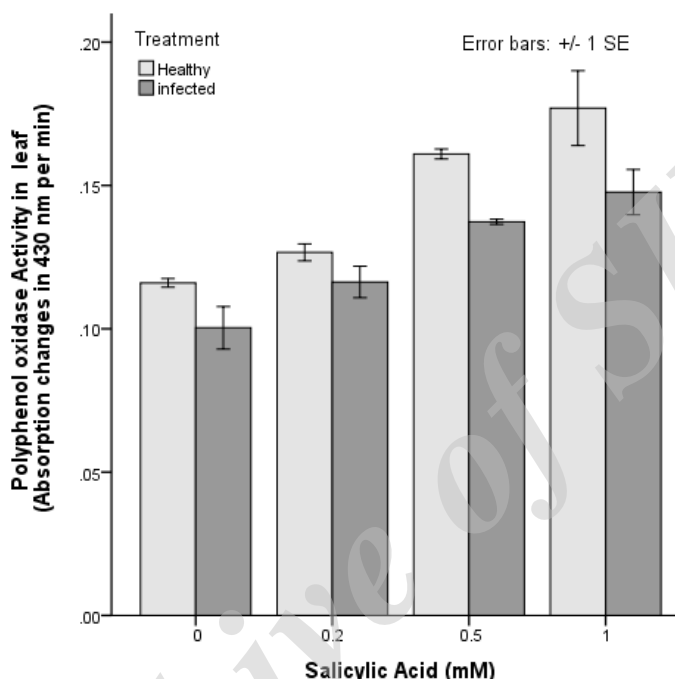
سلولی با فعالیت بیان ژن دفاعی یا به عنوان یک سد آنتی میکروبی در محل هجوم عمل می‌کند (۲۸). از طرف دیگر، افزایش مقادیر آنزیم پراکسیداز از طریق اسید سالیسیلیک مقاومت به قارچ رایزوکتونیا سلولانی را در گیاه نخود فرنگی (cowpea) به همراه داشته است (۱۸) و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهچه پسته (*Pistacia vera*) آلوده به قارچ اسپرژیلوس نیجر (*Aspergillus niger*) بیش از پسته غیر آلوده گزارش شده است (۱۱). اعتقاد بر این است که افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز با مکانیسم‌های دفاعی از جمله لیگنینی شدن و سوبرینی شدن از طریق اکسیداسیون فنل‌ها به کینون‌ها و

بحث

با توجه به اینکه آنزیم کاتالاز به طور مستقیم باعث تجزیه پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌شود (۲۶) و همچنین آنزیم پراکسیداز در چرخه گلوکاتایون-آسکوربات با استفاده از آسکوربات به عنوان دهنده الکترون نیز موجب تجزیه پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌شود. به نظر می‌رسد که کاهش فعالیت این آنزیم‌ها به واسطه آلودگی قارچی ناشی از دخالت این آنزیم‌ها در تجزیه پراکسید هیدروژن (H_2O_2) باشد که در حالت آلودگی میزان پراکسید هیدروژن بیشتر وجود داشته باشد و بهتر با آلودگی قارچی مقابله شود. زیرا اعتقاد بر این است که تولید آب اکسیژنه (H_2O_2) در

پلی‌فنل‌اکسیداز در گیاهان سیب‌زمینی آلوده به قارچ رایزوکتونیا سولانی نسبت به گیاهان سالم مشاهده شده است، به نظر می‌رسد که در گیاهان سیب‌زمینی مکانیسم تولید پراکسید هیدروژن (H_2O_2) نسبت به لیگنینی شدن در مقابل هجوم قارچ رایزوکتونیا سولانی از اهمیت بیشتری برخوردار باشد.

تشکیل لیگنین در سلولهای گیاهی نقش ایفاء می‌کند (به نقل از: ۱۰) و باعث ایجاد پلهای عرضی هیدروکسی پرولین موجود در دیواره سلولهای ریشه می‌شود که نتیجه آن، مقاومتی بافتی ریشه در برابر عوامل بیماری‌زا می‌گردد (به نقل از: ۸). از این رو با توجه به اینکه کاهش معنی‌داری در فعالیت آنزیمهای پراکسیداز و



شکل ۳- مقایسه فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز بر حسب جذب تغییرات آن در طول موج ۴۳۰ نانومتر در دقیقه در گیاهان سیب‌زمینی رقم آگریا سالم و آلوده به قارچ رایزوکتونیا سولانی در غلظتهای مختلف سالیسیلیک اسید

ستونهای کم‌رنگ گیاهان سالم (Healthy) و ستونهای پررنگ گیاهان آلوده به قارچ رایزوکتونیا سولانی (Infected) را نشان می‌دهد. خط بار (Line Bar) بر روی ستونها خطای استاندارد (SE) را بر اساس آزمون LSD نشان می‌دهد (مقادیر، میانگین سه تکرار \pm خطای استاندارد می‌باشد).

پراکسیداز و کاتالاز در این گزارشها مشخص نشده است. در گزارشهایی که افزایش فعالیت پراکسیداز را داشته‌اند، این گونه توجیه کرده‌اند که آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز باعث حذف و غیرفعال شدن گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند (۱۵) و بدین گونه گیاه با تنش مورد نظر مقابله می‌کند. در مقابل گزارشهایی که کاهش فعالیت پراکسیداز را داشته‌اند، این گونه توجیه کرده‌اند که کاهش آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز می‌تواند تولید انواع اکسیژن فعال (H_2O_2 , OH^- , O_2^-) را بدنبال داشته باشد که برای پاتوژنها (عوامل بیماری‌زا مثل قارچها) سمی است و از این طریق

در رابطه با اثر اسید سالیسیلیک بر روی افزایش و یا کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز گزارشهای متناقضی وجود دارد. در برخی از این گزارشها افزایش فعالیت آنزیمهای پراکسیداز و کاتالاز (۶۱) و در برخی دیگر کاهش فعالیت این آنزیمها گزارش شده است (۴ و ۷). و حتی Shabani و Ehsanpour (۲۰۱۰) گزارش کرده‌اند که فعالیت آنزیمهای پراکسیدازی و کاتالازی در گیاه شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*) در ۲۴ ساعت اولیه افزایش و پس از ۴۸ ساعت کاهش نشان داد (۳۷). هرچند که چگونگی و مکانیسم تأثیر اسید سالیسیلیک بر روی کاهش یا افزایش آنزیمهای

سالیسیلیک نقش مهمی در فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان از جمله القای پاسخهای دفاعی گیاه علیه پاتوژنها (عوامل بیماری‌زا) دارد (۳۳) و میزان آن طی مقاومت گیاه به عوامل تنش‌زا افزایش می‌یابد (۳۶). همچنین در عکس عملهای دفاعی گیاه میزان آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در گیاه افزایش می‌یابد (به نقل از: ۸)، اما چگونگی تأثیر اسید سالیسیلیک بر روی افزایش آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز مشخص نیست.

از طرف دیگر، باید خاطر نشان کرد که اثر بهبود دهندگی هورمون سالیسیلیک اسید در رشد و نمود گیاه به عوامل دیگری نیز بستگی دارد. بدین معنی که راه اندازی مکانیسمهایی که منجر به ایجاد مقاومت در گیاه در برابر حمله یک پاتوژن مثل قارچ رایزوکتونیا سولانی می‌شود فقط از طریق هورمون سالیسیلیک اسید نیست بلکه از طریق یک شبکه پیچیده وابسته به چندین سیستم علامت دهی است که سالیسیلیک اسید یکی از آن‌ها محسوب می‌شود (۴۰). از طرف دیگر، در حمله پاتوژن‌ها (مثل قارچ‌ها) به گیاه، مقدار انواع اکسیژن فعال افزایش پیدا می‌کند که خود باعث افزایش اسید سالیسیلیک در گیاه می‌شود، از اینرو پاسخهای دفاعی پیرو آلودگی قارچی تحریک می‌شود (۳۸). از سوی دیگر، سالیسیلیک اسید به محض مهار شدن آنزیم هائی همانند پراکسیداز یا کاتالاز قادر است همانند رادیکال‌های آزاد عمل کند. این موضوع به فرضیه رادیکال آزاد در عمل سالیسیلیک اسید هدایت شده که با اثر رادیکال‌های آزاد روی پراکسیداسیون لیپید و تولیداتی که ممکن است واکنش‌های دفاعی را فعال کند، توجیه می‌شود (۲۲).

سپاسگزاری

از همکاری مدیریت و پرسنل آزمایشگاه زیست‌شناسی علوم گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت (واحد علوم و تحقیقات فارس سابق) و همچنین از همکاری مدیر و پرسنل گروه پژوهشی بیوتکنولوژی سیب‌زمینی دانشگاه

گیاه با آنها مقابله می‌کند (۴۱). از این‌رو با توجه به اینکه در این تحقیق کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده شده است، بنابراین به نظر می‌رسد که یکی از روشها و مکانیسمهای مقابله گیاهان سیب زمینی با آلودگی قارچ رایزوکتونیا سولانی احتمالاً از طریق افزایش مقدار انواع اکسیژن فعال (H_2O_2 , OH^{\cdot} , $O_2^{\cdot-}$) باشد. از طرف دیگر، با افزایش غلظت اسید سالیسیلیک یک روند افزایشی در فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در برگ گیاهان سیب زمینی (سالم و آلوده) مشاهده می‌شود (شکل ۳). گزارش شده است که عکس عملهای دفاعی گیاه ممکن است به صورت موضعی و سیستمیک بروز نماید که در حالت سیستمیک، میزان برخی آنزیمهای مرتبط با دفاع گیاه مثل آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز و آنزیمهای دیگر در گیاه افزایش می‌یابد (به نقل از: ۸). اعتقاد بر این است که افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز با مکانیسمهای دفاعی از جمله لیگنینی شدن در سلولهای گیاهی ارتباط دارد (به نقل از: ۱۰) و باعث ایجاد پلهای عرضی هیدروکسی پرولین موجود در دیواره سلولهای ریشه می‌شود که نتیجه آن، مقاومت‌سازی بافتهای ریشه در برابر عوامل بیماری‌زا می‌باشد. از این‌رو به نظر می‌رسد که یکی از روشها و مکانیسمهایی که گیاهان سیب زمینی برای مقابله با تنش قارچ رایزوکتونیا سولانی بکار می‌برند، استفاده از مکانیسم دفاعی لیگنینی شدن باشد. به هر حال با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق به نظر می‌رسد که در گیاهان سیب زمینی روش مقابله و مکانیسم دفاعی لیگنینی شدن از اهمیت کمتری نسبت به مکانیسم تولید انواع اکسیژن فعال (H_2O_2 , OH^{\cdot} , $O_2^{\cdot-}$) در مقابل آلودگی با قارچ رایزوکتونیا سولانی برخوردار بوده است. از این‌رو به نظر می‌رسد که تأثیر اسید سالیسیلیک بر روی فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز به نوع تنش (زیستی و یا غیرزیستی)، نوع گونه گیاهی (حتی نوع وارسته) و شرایط آزمایش (کشت بافت، گلخانه‌ای و یا مزرعه‌ای) بستگی دارد و در همه شرایط یکسان نیست. به هر حال اعتقاد بر این است که اسید

اختیار قرار دادن بودجه پژوهشی مناسب برای این تحقیق کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

اصفهان تشکر می‌گردد. به علاوه، از همکاری مدیریت و پرسنل حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت و واحد علوم و تحقیقات فارس سابق به دلیل در

منابع

- ۱- باقریه نجار م. ب.، (۱۳۸۸) بررسی برخی از پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در گیاهان جهش یافته *AtrecQ14A* تحت تنش شوری. مجله پژوهش‌های تولید گیاهی، جلد ۱۶، شماره اول، صفحات ۱۱۵ تا ۱۳۲.
- ۲- بلالی غ. ر.، رحیمیان م.، کوثری م.، (۱۳۸۷) مطالعه تنوع ژنتیکی گروه AGI-IA قارچ رایزوکتونیا سولانی جدا شده از گیاه برنج با استفاده از مارکر پکتیک زایموگرام. مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۱، شماره اول (ویژه نامه میکروبیولوژی)، صفحات ۱۷ تا ۲۳.
- ۳- خواجه‌پور م. ر.، (۱۳۸۷) تولیدات نباتات صنعتی. انتشارات جهاد دانشگاهی واحد صنعتی اصفهان.
- ۴- کفیل زاده ف.، (۱۳۹۰) تاثیر سمیت کادمیوم بر رشد، قندهای محلول، رنگیزه های فتوسنتزی و برخی آنزیمها در گلرنگ. مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۴، شماره ششم، صفحات ۸۵۸ تا ۸۶۷.
- ۵- گزارش وزارت کشاورزی، (۱۳۸۸) آمارنامه کشاورزی سال ۱۳۸۸، آمارنامه کشاورزی، جلد اول. محصولات زراعی - سال زراعی ۸۸-۸۹، دفتر آمار و فناوری اطلاعات وزارت جهاد کشاورزی.
- ۶- سی وسه مرده ع.، (۱۳۹۰) ثرات تنش سرما در مرحله جوانه زنی و گیاهچه ای بر فعالیت آنزیمهای آنتی‌اکسیدان و برخی صفات فیزیولوژیکی در نخود. نشریه پژوهش‌های زراعی ایران، جلد ۹، شماره سوم، صفحات ۵۱۴ تا ۵۲۴.
- ۷- طایفی نصرآبادی ح.، دهقان غ. ر.، دایی حسنی ب.، موافقی ع.، صمدی ع.، (۱۳۸۹) بررسی برخی از ویژگی های بیوشیمیایی
- ۸- آنزیم کاتالاز در گیاه گلرنگ. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، شماره اول، دوره دوم، صفحات ۴۵ تا ۵۴.
- ۸- ملکی زیارتی، ح.، صاحبانی، ن.، اعتباریان، ح. ر.، (۱۳۹۱) کنترل بیولوژیک و القای سیستمیک آنزیمهای پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز به وسیله قارچ *Trichoderma harzianum* در گوجه فرنگی آلوده به نماتد *Meloidogyne javanica*. مجله کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی، شماره اول، صفحات ۶۱ تا ۷۲.
- ۹- مهتدی نیا ج.، محمدرضایی ر.، (۱۳۷۴) زراعت و نگهداری سیب زمینی. انتشارات جهاد کشاورزی.
- ۱۰- ناصری نصب، ف.، صاحبانی، ن.، اعتباریان، ح. ر.، (۱۳۹۱) تحریک تولید برخی ترکیبات دفاعی علیه نماتود مولد گره ریشه *Meloidogyne javanica* به وسیله اسید سالیسیلیک در گیاه گوجه فرنگی. گیاهپزشکی (مجله علمی کشاورزی)، جلد ۳۵، شماره ۴، صفحات ۱ تا ۱۲.
- ۱۱- هادوی م.، منتصر کوهساری ش.، سریری ر.، (۱۳۸۹) تغییرات الگوی الکتروفوریتیک و فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه های پسته احمد آقایی (*Pistacia vera*) رفسنجان در پاسخ به آلودگی با قارچ اسپرژیلوس نیجر (*Aspergillus niger*). مجله زیست‌شناسی ایران، سال دوم، شماره دوم، (پیاپی ۴)، صفحات ۲۱ تا ۳۰.
- ۱۲- هادی، م. ر.، بلالی، غ. ر.، طاهری، ر. (۱۳۸۷) اثر اسید سالیسیلیک بر روی کاهش خسارات ناشی از قارچ رایزوکتونیا سولانی (*Rizoctonia solani*) در غده‌های سیب زمینی. اولین هم‌اندیشی ملی سیب زمینی. سازمان جهاد کشاورزی استان اردبیل (۲۱-۲۲ خرداد).
- 13- Ahmed S. M. (2010) Effects of salicylic acid, ascorbic acid and two fungicides in control of early blight disease and some physiological components of two varieties of potatoes. Journal Agricultural Research, Kafer El-Shiekh University, 36(2):220-237.
- 14- Al-Moshileh A. M., Errebi M. A. (2004) Effect of various potassium sulfate rates on growth, yield and quality of potato grown under sandy soil and arid conditions. IPI regional workshop on Potassium and Fertigation development in West Asia and North Africa; Rabat, Morocco, 24-28.
- 15- Bailly C. (2004) Active oxygen species and antioxidants in seed biology. Seed Science Research, 14: 93-107.

- 16- Balali G. R., Hadi M. R., Naderi A. G., Eslami A. H., Yavari P., Bidram H. (2008) Effect of pot size, date of planting and germplasm on mini tuber production of potato. *African Journal of Biotechnology*, 7(9):1265-1270.
- 17- Chance B., Maehley A. (1955) Assay of catalases and peroxidase, *Methods in Enzymology*, 2:764-775.
- 18- Chandra A., Saxena R., Dubey A., Saxena P. (2007) Change in phenylalanine ammonia lyase activity in isozyme patterns of polyphenol oxidase and peroxidase by salicylic acid leading to enhanced resistance in cowpea against *Rhizoctonia solani*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 29:361-367.
- 19- Durner J, Klessig D. F. (1995) Inhibition of ascorbate peroxidase by salicylic acid and 2,6-dichloroisonicotinic acid, two inducers of plant defense responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 92:11312-11316.
- 20- Fabeiro C., Martin de Santa Olalla F., de Juan J. A. (2001) Yield and size of deficit irrigation potatoes. *Agricultural Water Management*, 48:255-266.
- 21- FAO (2008) Report of the Food and Agricultural Organization (FAO) of the United Nations of American.
- 22- Farmer E. E., Weber H., Vollenweider S. (1998) Fatty acid signaling in *Arabidopsis*. *Planta*, 206: 167-174.
- 23- Ghasemzadeh A., Jaafar H. Z. (2012) Effect of salicylic acid application on biochemical changes in ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6:790-795.
- 24- Goyal R. K., Hancock R. E. W., Mattoo A. K., Misra S. (2013) Expression of an Engineered Heterologous Antimicrobial Peptide in Potato Alters Plant Development and Mitigates Normal Abiotic and Biotic Responses. *PLOS ONE*, 8(10):e77505 (1-18).
- 25- Hadi M. R., Balali G. R. (2010) The effect of Salicylic acid on the reduction of *Rizoctonia solani* damage in potato. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 7 (4):492-496.
- 26- Jiang Y., Huang B. (2001) Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Science*, 41:436-442.
- 27- Laszlo M. (2010) Effects of potassium mineral fertilization on potato (*Solanum Tuberosum L.*) yield on a Chernozem soil in Hungary. *Geography research*, 12: EGU-2835.
- 28- Levine A., Tenhaken R., Dixon R., Lamb C. (1994) H₂O₂ from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. *Cell* 79: 583-593.
- 29- Mac-Adam J. W., Nelson C. J., Sharp R. E. (1992) Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. *Plant Physiology*, 99(3):872-878.
- 30- Mateo A, Funck D, Muhlenbock P, Kular B, Mullineaux P. M, Karpinski S. (2006) Controlled levels of salicylic acid are required for optimal photosynthesis and redox homeostasis. *Journal of Experimental Botany*, 57:1795-1807.
- 31- Nie X. (2006) Salicylic acid suppresses Potato virus Y isolate N:O-induced symptoms in tobacco plants. *Phytopathology*, 96:255-263.
- 32- Ogawa M., Hanada A., Yamauchi Y., Kuwahara A., Kamiya Y., Yama-guchi S. (2003) Gibberellin biosynthesis and response during *Arabidopsis* seed germination. *Plant Cell*, 15: 1591-1604.
- 33- Prithiviraj B., Bis H. P., Jha A. K., Vivanco J. M. (2005) Staphylococcus aureus pathogenicity on *Arabidopsis thaliana* is mediated either by a direct effect of salicylic acid on the pathogen or by SA- dependent, NPR1 independent host responses. *Plant Journal*, 42:417-432.
- 34- Raskin I. (1992) Salicylic acid, a new plant hormone. *Plant Physiology*, 99:799-803.
- 35- Raymond J., Rakariyatham N., Azanza J. L. (1993) Purification and some properties of polyphenoloxidase from sunflower seeds. *Phytochemistry*, 34:927-931.
- 36- Redman R., Freeman S., Clifton D. R., Morrel J., Brown G., Rutsy J. (1994) Biochemical analysis of plant protection afforded by a nonpathogenic endophytic mutant of *Colletotrichum magna*. *Plant Physiology*, 119:795-804.
- 37- Shabani L., Ehsanpour A. A. (2010) Induction of antioxidant enzymes, phenolic and flavonoid compounds in in vitro culture of licorice (*Glycyrrhiza glabra L.*) using methyl jasmonate and salicylic acid. *Iranian Journal of Biology*, 22 (4): 691-703.
- 38- Slaymaker D. H., Navarre D. A., Clark D., del Pozo O., Martin G. B., Klessig D. F. (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. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 99:11640–11645.
- 39- Sneh B., Jabaji-Hare S., Neate S., Dijst G. (1996) *Rhizoctonia* species: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology, and Control, 578 pp. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- 40- Thomma B. P. H. J., Penninckx I. A. M. A., Broekaert W. F., Cammue B. P. A. (2001) The complexity of disease signaling in Arabidopsis. Current Opinion in Immunology, 13:63–68.
- 41- Vieira F. A., Carvalho A. O., Vitória A. P., Retamal C. A. (2010) Differential expression of defence-related proteins in *Vigna unguiculata* (L. Walp.) seedlings after infection with *Fusarium oxysporum*. Crop Protection, 29:440-447.

The effects of salicylic acid on the peroxidase, catalase and polyphenoloxidase activities in potato plants infected to *Rhizoctonia solani*

Hadi M.R.¹, Jafarinia M.¹ and Balali G.R.²

Biology Dept., Islamic Azad University, Science and Research Branch, Marvdasht, I.R. of Iran

Potato Biotechnology Research, University of Isfahan, Isfahan, I.R. of Iran

Abstract

This study was carried out to evaluate the effects of salicylic acid on the peroxidase, catalase and polyphenoloxidase activities in potato Agria cultivar for reducing the pathogenesis of *Rhizoctonia solani* under greenhouse conditions. The potato minitubers (without any infection) were transferred to pots containing soil steril for growth. The sterilized soil of pots had infected by *R. solani* two weeks before planting. The 4 weeks-old plants (7-8 leaves) have been treated by 0.1, 0.2, 0.5 and 1 mM Salicylic acid every week for 4 times. Results showed that as salicylic acid increased, polyphenoloxidase activities were increased in potato plants (healthy and infected) whereas were decreased peroxidase and catalase activities under the same conditions. On the other hand, it seems that due to decreased activities of catalase and peroxidase and production of reactive oxygen species (H_2O_2 , OH^\cdot , O_2^\cdot) which are toxic for fungi, so potato plants can be resistance to *R. solani*. Also, it seems that to increase polyphenoloxidase activity, defensive mechanisms such as lignification and build bridges transverse hydroxyproline in root cell walls cause strengthen in the root tissues, so potato plants can be resistance against *R. solani*.

Key words: Potato, Salicylic Acid, *Rhizoctonia solani*, Peroxidase, Catalase