بررسی تأثیر سالیسیلیک اسید بر روی فعالیت آنزیمهای پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل‌اکسیداز 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 دریافت: ۹۲/۱۱/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۲۶

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 سیب زمینی آگریا در شرایط گلخانه‌ای بررسی شد. دو هفته قبل از کاشت ریزغده‌های سیب زمینی، خاک استریل گلدانها در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با قارچ ریزوکتونیا سولانی آلوده شدند. تیمار سالیسیلیک اسید در مرحله ۸-۷ 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 پلی‌فنل‌اکسیداز در برگ تازه گیاهان سالم و آلوده سیب زمینی اندازه گیری گردید. نتایج نشان داد با افزایش میزان اسید سالیسیلیک، میزان فعالیت آنزیمهای پراکسیداز و کاتالاز در گیاهان سیب زمینی سالم و آلوده یک روند کاهشی داشت. در صورتی که فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز 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 سیب زمینی با قارچ رایزوکتونیا سولانی مقابله می‌کند. همچنین ممکن است به علت افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز، مکانیسمهای دفاعی ازجمله لیگنینی شدن و ایجاد پلهای عرضی هیدروکسی پرولین در دیواره سلولهای ریشه باعث مقاوم‌سازی بافتهای ریشه گیاه سیب زمینی در برابر قارچ رایزوکتونیا سولانی شود.

واژهای کلیدی: سیب‌زمینی، اسید سالیسیلیک، رایزوکتونیا سولانی، پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل‌اکسیداز

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

مقدمه

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 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

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 اسکلروت 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 مهم ترین 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 سالسیلیک اسید باعث 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 آرابیدوپسیس با استفاده از سالیسیلک 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 جبران ناپذیری 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 مهم ترین راهکارهای مبارزه با قارچهای گیاهی استفاده از واریته‌های مقاوم و یا بهبود مقاومت واریته‌های موجود با استفاده از روشهای مختلف ازجمله 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 دهندگی خود را روی رشد گیاهان اعمال می‌کند، از این‌رو در این پژوهش اثر سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیمهای مذکور مطالعه شد.

مواد و روشها

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 سوپرالیت (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 درجه‌سانتی گراد) 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 اسپرات (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 اسپرات) قرار داده شد. سپس گلدانها جهت رشد در شرایط مناسب یعنی تحت نور با لامپهایLED (= Light-Emitting Diode) LED Lampبا شدت نوری برابر با ۳۰۰۰ لوکس (lux) و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در دمای ۱۸ درجه‌سانتی‌گراد در شب (تاریکی) تا ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد در روز (روشنایی) قرار داده شدند. سپس تعداد ۲۴ عدد از گلدانهایی که جوانه‌های ریزغده (اسپراتها) به خوبی از خاک آنها بیرون زده بودند و اندازه اسپرات آنها یکسان بود، برای اجرای طرح آزمایش انتخاب شد.

تهیه قارچ و روش آلوده‌سازی گیاهان: قارچ رایزوکتونیا سولانی (*Rhaizoctonia solani*) به صورت خالص و کشت‌شده بر روی آگار در دو ظروف پتریدی از گروه زیست شناسی 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 قرارداده شد (تیمارآلوده‌سازی 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

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 بافرفسفات 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).

اندازه گیری فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز: اندازه گیری 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 پیروگالل (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 آخرین عدد جذبی را از اولین عدد جذبی خوانده شده کم کرده و بر عدد ۴ تقسیم شد (۳۵).

اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز: اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Chance و Maehley (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 میکرومولار آب اکسیژنه (H_2O_2) خالص مخلوط شدند. و این محلول برای مدت یک دقیقه در دمای آزمایشگاه (دمای ۲۵ درجه سانتی گراد) 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) تیتر 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 پراکسیدهیدروژن 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.

نتایج

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 پلی‌فنل‌اکسیداز 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 پلی‌فنل‌اکسیداز در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. از طرف دیگر، اثر متقابل تیمار اسید سالیسیلیک و تیمار قارچ رایزوکتونیا سولانی بر روی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل‌اکسیداز 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 پلی‌فنل‌اکسیداز در گیاهان سیب زمینی رقم آگریا سالم نسبت به گیاهان آلوده به قارچ رایزوکتونیاسولانی به طور معنی‌داری بیشتر است. که با نتایج Goyal و همکاران (۲۰۱۳) در گیاه سیب زمینی (۲۴) همخوانی نشان می‌دهد.

جدول ۱- آنالیز واریانس برای فعالیت آنزیم پراکسیداز، فعالیت آنزیم کاتالاز و فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز 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	میانگین مربعات		
		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 *: به‌ترتیب معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد و ۵ درصد و علامت ns معنی‌دارنبودن (not significant = ns) را نشان می‌دهند.

جدول ۲- مقایسه میانگین فعالیت آنزیمهای پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل‌اکسیداز 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 پلی فنل 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.

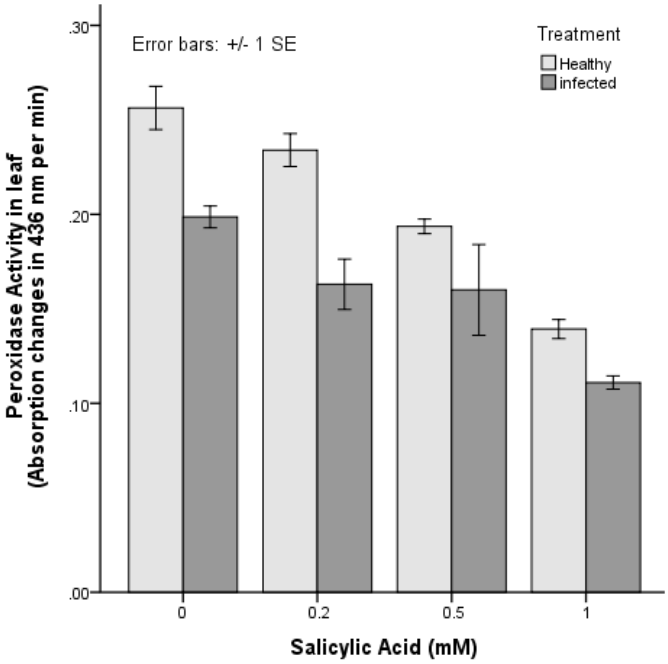
اثر سالیسیلیک اسید: مقایسه میانگینهای فعالیت آنزیمهای مورد بررسی بر اساس آزمون دانکن در جدول ۳ نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیمهای پراکسیداز و کاتالاز در گیاهان شاهد (کنترل) کسب گردید و کمترین میزان آنها در غلظت یک میلی‌مولار اسیدسالیسیلیک مشاهده شد. به علاوه، با افزایش میزان اسید سالیسیلیک، میزان فعالیت آنزیمهای پراکسیداز و کاتالاز یک روند کاهشی داشت (شکلهای ۱ و۲). نتایج این تحقیق با نتایج Durner و Klessing (۱۹۹۵) و همچنین با نتایج Vieira و همکاران (۲۰۱۰) همخوانی نشان می‌دهد (۱۹ و ۴۱) ولی

با نتایج تحقیقات Ghasemzadeh و Jaafar (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 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).

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

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

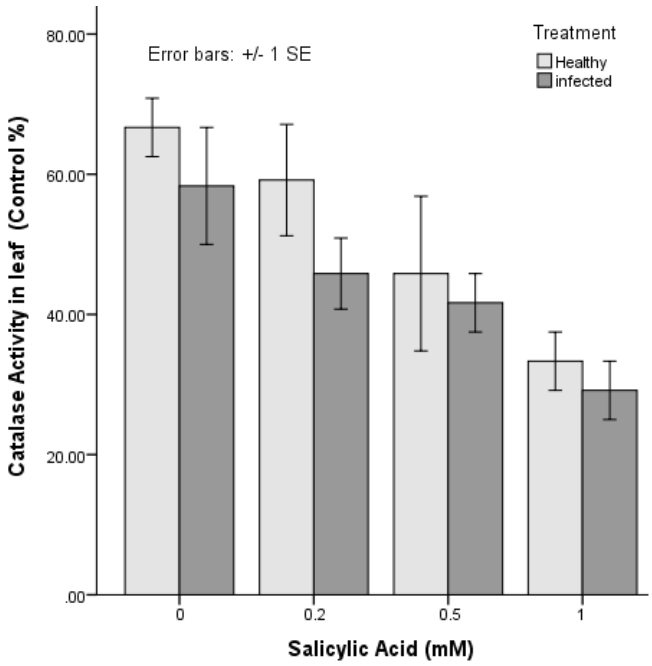
حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهد.



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).

اثر متقابل سالیسیلیک اسید و قارچ رایزوکتونیا سولانی:
با توجه به اینکه اثر متقابل تیمار اسید سالیسیلیک و تیمار قارچ رایزوکتونیا سولانی بر روی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل‌اکسیداز معنی‌دار نبود، از این‌رو بحثی در رابطه با مقایسه میانگینهای آنها نیز وجود ندارد. با 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 این‌رو نمودارهای مربوطه در شکلهای ۱ ، ۲ و ۳ ارائه شده است.



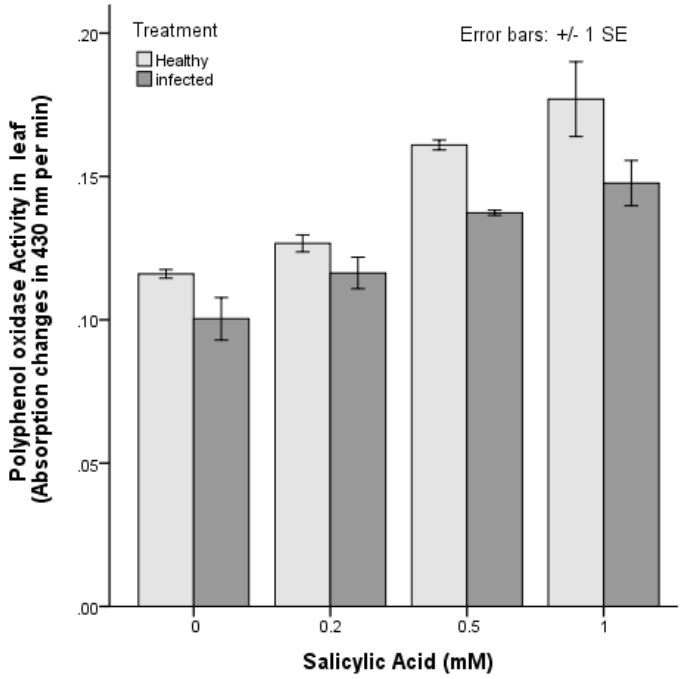
شکل ۲- مقایسه فعالیت آنزیم کاتالاز برگ بر حسب درصد کنترل در گیاهان سیب‌زمینی رقم آگریا سالم و آلوده به قارچ رایزوکتونیا سولانی در غلظتهای مختلف سالیسیلیک اسید

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).

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 گلوتاتیون- 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 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 سولانی را در گیاه نخود فرنگی (cowpea) به همراه داشته است (۱۸) و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهچه پسته (*Pistacia vera*) آلوده به قارچ آسپرژیلوس 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 ازجمله لیگنینی شدن و سوبرینی شدن از طریق اکسیداسیون فنلها به کینونها و

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، مقاوم‌سازی بافتهای ریشه در برابر عوامل بیماری‌زا می‌گردد (به نقل از: ۸). از این‌رو با توجه به اینکه کاهش معنی‌داری در فعالیت آنزیمهای پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز در گیاهان سیب زمینی 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.



شکل ۳- مقایسه فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز 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± خطای استاندارد می‌باشد).

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 (۱و۶) و در برخی دیگر کاهش فعالیت این آنزیمها گزارش شده است (۴ و۷). 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 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

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^- , O_2^-) 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 العملهای 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 می‌یابند (به نقل از: ۸). اعتقاد بر این است که افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز با مکانیسمهای دفاعی ازجمله 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، مقاوم‌سازی 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^- , O_2^-) 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 واریته) 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 سالیسیلیک نقش مهمی در فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهان ازجمله 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 العملهای 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 مکانیسمهائی که منجر به ایجاد مقاومت در گیاه در برابر حمله یک پاتووژن مثل قارچ رایزوکتونیا سولانی می شود 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 ان ها محسوب می شود (۴۰). از طرف دیگر، در حمله پاتوژن ها (مثل قارچ ها) به گیاه، مقدار انواع اکسیژن فعال افزایش پیدا می کند که خود باعث افزایش اسید سالیسیلیک در گیاه می شود، از اینرو پاسخهای دفاعی پیرو آلودگی قارچی تحریک می شود (۳۸). از سوی دیگر، سالیسیلیک اسید به محض مهار شدن آنزیم هائی همانند پراکسیداز یا کاتالاز قادر است همانند رادیکال های آزاد عمل کند. این موضوع به فرضیه رادیکال آزاد در عمل سالیسیلیک اسید هدایت شده که با اثر رادیکال های آزاد روی پراکسیداسیون لیپید و تولیداتی که ممکن است واکنش های دفاعی را فعال کند، توجیه می شود (۲۲).

سپاسگزاری

از همکاری مدیریت و پرسنل آزمایشگاه زیست شناسی 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

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

منابع

۱- باقریه نجار م. ب.، (۱۳۸۸) بررسی برخی از پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در گیاهان جهش یافته *AtrecQl4A* 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 زیست شناسی 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 درگلرنگ. مجله زیست شناسی 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 ۸۹-۸۸، 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 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 الکتروفورتیک و فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه های پستهٔ احمد آقایی (*Pistacia vera*) رفسنجان در پاسخ به آلودگی با قارچ آسپرژیلوس نیجر (*Aspergillus niger*). مجله زیست شناسی ایران، سال دوم، شماره دوم، (پیاپی ۴)، صفحات ۲۱ تا۳۰.

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 هم اندیشی 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 somephysiological 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 peroxidise 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) Repote of the Food and Agricutural Organization (FAO) of the United Nation 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) H_2O_2 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., Kles-sig 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 *Rizoctonia 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 activites of catalase and peroxidase and production of reactive oxygen species (H_2O_2, OH^-, O_2^-) 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