اثر ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV) و مصرف اسید سالیسیلیک (SA) بر میزان قند و نشاسته گیاه طالبی رقم سمسوری

مژگان عبدشاهیان[1*] ، سمیه صف آرا[2]، محمد رعایایی اردکانی[3]

۱- استادیار ، گروه کشاورزی ، دانشگاه پیام نور، تهران . ۲- دانشجوی دکتری بیماری های گیاهی دانشگاه کردستان. ۳- استاد گروه زیست شناسی دانشگاه شهید چمران اهواز.

*نویسنده مسئول: mah1252003@yahoo.com

چکیده

ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV) از مهمترین و مخرب ترین ویروس های کدوئیان می باشد. علایم ZYMV در مزارع اغلب شدید و موجب کاهش محصول می شود. علاوه براین، میوه های تولید شده از گیاهان آلوده بدشکلی شدید و اختلالات رنگی که موجب کاهش بازارپسندی آنها می شود، را به نمایش می گذارند. در خربزه و طالبی (*Cucumis melo*) علایم زودرس در برگ ها به صورت روشن شدن رگبرگ ها و موزائیک زرد است. جهت بررسی اثرات ویروس ZYMV و غلظت موثر اسید سالیسیلک در شرایط آلودگی به آن ، بر محتوای قند و نشاسته گیاهان طالبی رقم سمسوری مطالعه زیر صورت گرفت. سنجش میزان قند و نشاسته به روش Sheligl صورت گرفت. نتایج نشان می دهد که استفاده از اسید سالیسیلیک موجب افزایش میزان قند و نشاسته در تیمارهای آلوده به ویروس می گردد. در میان غلظت های مختلف SA، غلظت ۸۰ میکرومولاری اسید سالیسیلیک پیش از آلودگی به ویروس (تیمار 80SA+V) دارای بهترین اثر در جهت بهبود پارامترهای مورد مطالعه بود.

کلمات کلیدی: اسید سالیسیلیک، ZYMV، ،میزان قند و نشاسته

مقدمه

بسیاری از اعضای تیره کدوئیان (Cucurbitacae) به طور وسیعی در سراسر دنیا برای مصارف گوناگون تغذیه ای،زینتی ودارویی کشت می شوند.عمده ترین دلیل کشت آنها مصرف تغذیه ای آنهاست (قهرمان، ۱۳۷۳). ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV) از مهمترین و مخرب ترین ویروس های کدوئیان است (شعبانیان و همکاران، ۱۳۸۶) و اولین بار در سال ۱۹۸۱ توسط Lisa و همکاران در سال ۱۹۸۱به عنوان یک عامل بیماریزای مخرب از گیاهان کدو در شمال ایتالیا گزارش شده است (Lisa et al,1981). بررسی ها نشان می دهد که فرآیند بیماری همراه با کاهش فتوسنتز و قند محلول، کاهش تجمع نشاسته و افزایش تنفس است (Tecsi et al,1996). مطالعات فراساختاری Zechmann و همکاران در سال ۲۰۰۵ بر روی تغییرات محتوای گلوتاتین برگ های کدو رقم Styriaca آلوده به ZYMV در مقایسه با گیاهان شاهد (گیاهان سالم) نشان می دهد که در سلول های مزوفیل برگ های پیرتر، تراکم گلوتاتین بیشتر و در مرتبه بعد، برگ های جوان با رشد کامل، میزان بیشتری گلوتاتین را در مقایسه با گیاهان شاهد دارند. از سوی دیگر، در سلول های نوک ریشه این گیاهان، کاهش در میزان تراکم گلوتاتین دیده می شود. گلوتاتین در بسیاری از اعمال سلولی از جمله انتقال و تجمع گوگرد و جبران اکسیداتیوهای ناشی از استرس های ایجاد شده در اثر عوامل زنده و غیرزنده موثر است (Zechmann et al,2005)

مواد و روش‌ها

گیاهان طالبی در محیط گلخانه درون گلدان های به قطر ۲۲ سانتی متری کشت شدند. درون گلدان ها از کود پوسیده دامی، شن و خاک رس به نسبت مساوی پر شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب بلوک کامل تصادفی با ۸ تیمار و سه تکرار صورت گرفت. دو سطح آلودگی و عدم آلودگی با ویروس به عنوان فاکتور اول و چهار سطح غلظت اسید سالیسیلیک شامل ۰ ،

۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میکرو مولاری به عنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شدند. در مرحله دو لپه ای برخی گلدان ها بسته به نوع تیمار با استفاده از محلول اسید سالیسیلیک حاوی چند قطره Tween80 اسپری شدند. سه روز پس ازآن بر اساس نوع تیمار برخی از گیاهچه ها با ویروس موزائیک زرد کدو به نسبت ۱ به ۵ (وزن برگ آلوده به بافر فسفات ۰/۱ مولار) جدایه دزفول (جمع آوری شده و خالص سازی شده به روش بیولوژیک از منطقه دزفول در شمال خوزستان) و به روش مکانیکی با ویروس موزائیک زرد کدو، با استفاده از پودر کاربراندوم مایه زنی شدند.

هشت گروه تیماری به شرح زیر است:

۱. تیمار C: گیاه سالم (کنترل منفی)
۲. تیمارV: گیاه آلوده به ویروس(کنترل مثبت)
۳. تیمار40SA: گیاه محلول پاشی شده با اسید سالیسیلیک به غلظت ۴۰ میکرومولار
۴. تیمار40SA+V: گیاه محلول پاشی با اسید سسالیسیلیک ۴۰ میکرومولار و آلوده به ویروس ZYMV
۵. تیمار 80SA: گیاه محلول پاشی شده با اسید سالیسیلیک به غلظت ۸۰ میکرومولار
۶. تیمار80SA+V: گیاه محلول پاشی شده با اسید سالیسیلیک به غلظت ۸۰ میکرومولار و آلوده به ویروس ZYMV
۷. تیمار120SA: گیاه محلول پاشی شده با اسید سالیسیلیک به غلظت ۱۲۰ میکرومولار
۸. تیمار120SA+V: گیاه محلول پاشی شده با اسید سالیسیلیک به غلظت ۱۲۰ میکرومولار و آلوده به ویروس ZYMV

۲۷ روز پس از مایه زنی از نمونه های برگی طالبی نمونه برداری شد. جهت برداشت نمونه های برگی تازه، برگ را در فویل آلومنیوم پیچیده و در ازت مایع قرارداده شدند تا نمونه ها تثبیت گردند و به سرعت نمونه ها به فریزر منتقل گردید.

میزان قند های محلول و نشاسته

مقدار ۰/۱۱ گرم پودر خشک گیاه را در فالکون ۱۵ میلی لیتری ریخته و به آن ۱۵ میلی لیتر اتانول ۸۰٪ گرم اضافه و به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس گردید. سپس فالکون ها به مدت ۱۰ دقیقه در rpm ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. مایع رویی در پتری دیش ریخته و در آون قرار داده شدند تا اتانول کاملاً تبخیر گردد. پس از تبخیر الکل به هر پتری دیش ۴۰ میلی لیتر آب مقطر افزوده و به فالکون های ۵۰ میلی لیتری منتقل شدند. سپس ۵ میلی لیتر محلول ۵٪ سولفات روی و ۴/۷ میلی لیتر هیدروکسید باریوم ۰/۳ نرمال افزوده و مجدداً ورتکس شدند. نمونه ها مجدداً در rpm ۳۰۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردیده و ۲ میلی لیتر از مایع رویی آن به فالکون ۱۵ میلی لیتری منتقل گردید. به محلول حاضر ۲ میلی لیتر محلول فنل ۵٪ افزوده و لوله به شدت تکان داده شدند تا حباب بر روی سطح آنها حاصل شود. در نهایت ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۹۷٪ به هریک از نمونه ها افزوده و پس از ۴۵ دقیقه در طول موج ۴۸۵ نانومتر قرائت گردیدند (Shelig,1986).

به تفاله های حاصل از آزمایش قند ۵ میلی لیتر آب مقطر افزوده گردید. به هر کدام ۶/۵ میلی لیتر اسید پرکلریک ۵۲٪ اضافه گردید. نمونه ها را به مدت ۲۰ دقیقه در یخچال نگهداری و بعد سانتریفیوژ شدند. مایع رویی به فالکون ۵۰ میلی لیتری منتقل گردیده و مجدداً به تفاله ها ۳/۵ میلی لیتر اسید پرکلریک افزوده گردید. پس از سانتریفیوژ محلول رویی به مایع قبلی افزوده شد.

حجم مایع درون هر فالکون با آب مقطر به ۵۰ میلی لیتر رسانده شد. ۲ میلی لیتر از مایع حاصل را برداشته ودر فالکون ۱۵ میلی لیتری ریخته به آن ۱ میلی لیتر فنل ۵٪ افزوده درب آن را بسته به شدت تکان داده تا حباب بر روی آن ظاهر شود. به هر نمونه ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۹۷٪ افزوده و پس از ۴۵ دقیقه پس از تثبیت رنگ در طول موج ۴۸۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید. از محلول های مختلف گلوکز به عنوان استاندارد استفاده شد (Shelig,1986).

تجزیه و تحلیل داده ها به کمک نرم افزار SAS و مقایسه میانگین ها به روش دانکن و در سطح ۵٪ انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج به دست آمده از داده های قند گیاهان طالبی تفاوت معنی داری بین تیمارهای شاهد و ویروسی نشان نمی دهد. با این وجود، سطح قند تیمار ویروسی ۲۸٪ کمتر از تیمار شاهد بود. همچنین کاهش معنی دار نشاسته در اثر فعالیت ویروس در برگهای طالبی مشاهده گردید (جدول ۱). همچنین این نتایج نشان می دهد که استفاده از اسید سالیسیلیک موجب افزایش قند و نشاسته در تیمارهای آلوده به ویروس می گردد (جدول ۱). اثر توام SA و ویروس در تیمارها متفاوت بود، به طوری که بیشترین میزان قند در تیمار40SA+V و بیشترین میزان نشاسته در تیمار 80SA+V مشاهده شد. بررسی تیمار 120SA+V (دارای پایین ترین سطح قند) نشان می دهد که ترکیب ۱۲۰ میکرومولار SA و آلودگی ویروس تا حد زیادی موجب کاهش قند می شود و این میزان غلظت از اسید سالیسیلیک نه تنها موجب افزایش قند و نشاسته نمی شود بلکه موجب کاهش مقادیر آنها می گردد (جدول ۱). این امر نشان می دهد که افزایش غلظت اسید سالیسیلیک تا ۱۲۰ میکرو مولار نتیجه معکوس می دهد.

در بررسی قند بین تیمارهای شاهد و آلوده به ویروس طالبی، تفاوت معنی داری مشاهده نشد. بررسی های Love و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان می دهد که سطح قند های محلول در برگ های شلغم آلوده به CaMV تفاوتی با تیمار شاهد (گیاه سالم) ندارد. همچنین در مطالعه بر روی گیاه آرابیدوپسیس، تاثیر قابل توجهی در سطح قند در اثر آلودگی به CaMV مشاهده نشد (۱۲). مشاهده داده های نشاسته حاکی از کاهش بیش از ۱۳ درصدی گیاهان آلوده به ZYMV نسبت به طالبی های سالم دارد. گزارش های متعددی نشان می دهند که متابولیسم کربوهیدرات در برگ ها در اثر آلودگی ویروسی تحت تاثیر قرار می گیرد. برگ های آلوده معمولا با کاهش غلظت قندهای محلول روبرو هستند. این تغییرات معمولا با کاهش محتوای نشاسته برگ همراه است. مطالعه ای نشان می دهد که بالارفتن میزان کاهش قند و محتوای نشاسته در اثر آلودگی به CMV به علت هیدرولاز نشاسته بیشتر و فعالیت های پیروفسفولاز(pyrophosphorylase) کمتر ADP-GLC است (۷). همچنین پیشنهاد شده است که جلوگیری از تجمع نشاسته ویا تخریب نشاسته ممکن است به دلیل افزایش تقاضا برای مصرف قندهای محلول مورد نیاز در تنفس با سرعت بالا باشد (۲۱).

جدول ۲. اثرات آلودگی به ویروس و استفاده از اسید سالیسیلیک بر قند و نشاسته گیاهان طالبی رقم سمسوری در تیمارهای مختلف. مقایسه آماری میانگین ها در سطح ۵٪ و با استفاده از آزمون دانکن صورت گرفته است. منفی بودن درصدهای تغییرات به منزله افزایش درصدها بیش از تیمار شاهد (Control) و مثبت بودن آن نشانه درصد کاهش آن تیمار نسبت به تیمار شاهد است.

تیمارها	قند(mg /gdw)		نشاسته(mg/g dw)	
	M±SD	کاهش %	M±SD	کاهش %
Control	۲۰۱/۰۳^{BCD}	-	۱۰۱۹/۰۸^{A}	-
Virus	۱۴۳/۰۶^{DE}	۲۸/۸۳	۸۷۷/۳۶^{BCD}	۱۳/۹۱
40SA	۲۵۶/۹۷^{AB}	-۲۷/۸۳	۹۵۵/۳۳^{ABC}	۶/۲۵
80SA	۲۷۳/۲۸^{AB}	-۳۵/۹۴	۸۱۶/۸۴^{D}	۱۹/۸۴
120SA	۲۰۷/۸۷^{AB}	-۳/۴۰	۹۴۴/۷۱^{ABCD}	۷/۳۰
40SA+V	۲۳۴/۹۷^{ABC}	-۱۶/۸۹	۶۸۰/۶۳^{E}	۳۳/۲۱
80SA+V	۱۸۹/۳۶^{CDE}	۵/۸۰	۹۷۳/۱۳^{AB}	۴/۵۱
120SA+V	۱۳۹/۲۱^{E}	۳۰/۷۵	۸۳۸/۱۱^{CD}	۱۷/۷۶

همچنین نتایج ما نشان می دهد که کاربرد SA موجب افزایش قند و نشاسته و بهبود شرایط آلودگی به ویروس می شود. بیشترین میزان نشاسته (ماده ذخیره ای گیاه) در گیاهان آلوده به ZYMV ، در تیمار 80SA+V مشاهده شد. نتایج Radwan و همکاران در سال ۲۰۰۷، بر افزایش میزان کربوهیدرات ها در اثر مصرف SA صحه می گذارند (۱۷). همچنین در مطالعه دیگری Radwan و همکاران در سال ۲۰۰۸، نشان دادند که پیش تیمار سلول های *Vicia faba* با SA پیش از آلودگی به BYMV، موجب ایجاد کلروپلاست های بسیار رشد یافته با دانه های فراوان نشاسته می گردد (۱۸).

منابع

۱- شعبانیان، م ، معصومی، ح ، حسینی پور، ا ، حیدرنژاد، ج ، اعظمی، ذ، (۱۳۸۶)، شناسایی و پراکندگی ویروس های آلوده کننده خیار گلخانه ای در منطقه جیرفت و بررسی برخی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی ویروس موزائیک زرد کدو (ZYMV) Zucchini Yellow Mosaic Virus، علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. جلد۱۱، شماره۱ب، ص: ۴۰۶-۳۹۳.

۲- قهرمان، ا، (۱۳۷۳) کورموفیت های ایران: سیستماتیک گیاهی، جلدسوم، مرکز نشردانشگاهی،۷۴۳ صفحه.

3- Lisa, v., Boccardo, G. D., Agostino, G., Dellovalle, G., Aquilio, M., (1981), Characterizaion of a potyvirus that causes Zucchini Yellow Mosaic, Phytopathology, 71: 667-672.

4- Love, A. J., Martin, T., Graham,I. A., Milner, J. J., (2005), Carbohydrate partitioning and sugar signalling in Cauliflower mosaic virus-infected turnip and Arabidopsis, Physiological and Molecular Plant Pathology, 67 :83–91.

5- Radwan, D. E. M., Fayez, K. A., Mahmoud, S. Y., Hamad, A., Lu, G., (2007), Physiological and metabolic changes of Cucurbita pepo leave in response to Zucchini Yellow Mosaic Virus (ZYMV) infection and salicylic acid treatments, Plant Physiology and Biochemistry, 45: 480-489.

6- Radwan, D. E. M., Lu, G., Fayez, KH. A., Mahmoud, S. Y., (2008), Protective action of salicylic acid against bean yellow mosaic virus infection in Vicia faba leaves, Journal of Plant Physiology, 165: 845—857.

7- Sheligl, H. Q., (1986) Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht, Planta Journal, 47-51.

8- Técsi, L. I., Smith, A. M., Maule, A. J., Leegood, R. 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.

9- Zechmann, B., Zellnig, G., Muller, M., (2005), Changes in the subcellular distribution of glutathione during virus infection in Cucurbita pepo, Plant Biology, 7: 49-57.

The effect of Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) and salicylic acid (SA) application on sugar and starch of muskmelon cv. Samsuri.

M. Abdeshahian[1*], S. Safara[2], M. Roayayi Ardakani[3]

1-Assistant Prof., Agriculture Department,Payame Noor University,Tehran.2- Ph.D student of Plant Pathology, Kordestan University. 3-Professore, Biology Department,Shahid Chamran University ,Ahvaz

*Correspondent Author: mah1252003@yahoo.com

Abstract

Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) is the most destructive viruses of cucurbits. ZYMV symptoms are most severe in the fields and reduce the product. In addition, virus causes severe deformities and color abnormalities in fruits of infected plants and reduces their marketability. In melon (*Cucumis melo*), early symptoms includes vein clearing and yellow mosaic in the leaves. The effects of ZYMV on sugar & starch content of the muskmelon cv. Semsori and determining the effective concentration of Salicylic acid (SA) and the recovery role of SA were studied. sugar & starch was measured by Sheligl method. These parameters were reduced by virus activity. Application of salicylic acid were increased the sugar, starch on ZYMV-infected treatments. Among various

concentrations of SA, application of 80 µM salicylic acid before infection (treatment 80SA + V) has the best effect of improving these parameters.

Key words: Salicylic acid, ZYMV, Sugar & Starch content.