


Paper Type: Original Article



Studying the Morphophysiological and Biochemical Responses of Tomato Treated With Potassium Sorbate Under *Alternaria solani* Stress

Leyli Honarmand¹, Nadali Babaeian Jelodar^{*1} , Nadali Bagheri¹, Ali Dehestani², Valiollah Babaeizad³

¹Department of Plant Breeding, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran;*(Professor: Corresponding author: nbabaeian@yahoo.com).

²Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

³Department of Plant Protection, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

Citation:

Honarmand, L., Babaeian Jelodar, N., Bagheri, N., Dehestani, A. & Babaeizad, V. (2024). Studying the morphophysiological and biochemical responses of tomato treated with potassium sorbate under *Alternaria solani* stress. *The quarterly scientific journal of applied biology*, Volume 37 (Issue No. 2), PP. 73-85

Received: 2024.01.25

Accepted: 2024.05.07

Abstract

Introduction: Early blight is one of the most significant tomato diseases and fungicide application is the most common measure used to control its damage. Exploitation of generally regarded as safe (GRAS) and defense inducers have been focused on as alternative strategies to avoid environmental impacts of fungicides. Defense inducers enhance plant defense system against stresses through inducing specific changes in plant physiological characteristics. In the present study the effect of potassium sorbate (KS) on physiological, biochemical and defense response of *Alternaria solani*-infected tomato plants was investigated.

Methods: This research was conducted as a split plot-factorial with three factors, presence or absence of a pathogen, the use of either KS or distilled water (control) for foliar spraying, and three time courses for sampling (24, 72, and 168 hours).

Results: The results showed that the fresh and dry weights in inoculated plants were lower than that of non-inoculated plants. The pathogen caused damage to the plant cell membrane and significantly reduced photosynthetic pigments. Additionally, the amount of MDA and chl-a in inoculated plants was significantly decreased compared to non-inoculated plants. The activity of POD and CAT enzymes significantly increased in plants treated with KS compared to the control. Chitinase enzyme in plants treated with KS showed a significant increase in the inoculated plants 168 hours, which can be a sign of immune system stimulation.

Conclusion: The results revealed that that the KS inducer was effective on the weight and growth of plants and reduced biotic stress damages through increased activity of antioxidant and defense enzymes.

Keywords: Defense enzymes, Early blight, Induced resistance, Pathogenic fungus



مطالعه پاسخ‌های مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه گوجه‌فرنگی تیمار شده با

سوربات پتاسیم تحت تنش *Alternaria solani*

لیلی هنرمند^۱، نادعلی باباییان جلودار^{۲*}، نادعلی باقری^۳، علی دهستانی^۴، ولی اله بابائی زاده^۵

^۱دانشجوی دکتری، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

^۲آستاد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

(*نویسنده مسئول: nbabaeian@yahoo.com)

^۳دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

^۴دانشیار، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

^۵دانشیار، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۰۵

چکیده

مقدمه: بیماری لکه‌موجی از بیماری‌های مهم گوجه‌فرنگی بوده و کاربرد قارچ‌کش‌ها رایج‌ترین روش مدیریت آن می‌باشد. به دلیل مضرات زیست‌محیطی قارچ‌کش‌ها، استفاده از ترکیبات جایگزین کم‌خطر و القاگرهای دفاعی مورد توجه قرار گرفته است. القاگرهای دفاعی، موجب تغییرات فیزیولوژیک تخصصی در گیاه شده و سیستم‌های دفاعی میزبان را در برابر تنش تقویت می‌کنند. در این مطالعه، تأثیر القاگر سوربات پتاسیم (KS) روی پاسخ‌های فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و دفاعی گوجه‌فرنگی تحت تنش قارچ بیماری‌زا *Alternaria solani* ارزیابی شد.

روش‌ها: این تحقیق به صورت اسپلیت پلات فاکتوریل با سه فاکتور، حضور یا عدم حضور قارچ بیماری‌زا، استفاده از KS یا آب مقطر (شاهد) برای محلول‌پاشی و سه دوره زمانی برای نمونه‌برداری (۲۴، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت پس از تلقیح) اجرا گردید.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که وزن تر و خشک در گیاهان تلقیح شده، از گیاهان شاهد کمتر بود. بیماری‌زا سبب آسیب به غشای سلولی گیاه و رنگیزه‌های فتوسنتزی شد و مقدار MDA و Chl-a در گیاهان تلقیح‌شده نسبت به گیاهان تلقیح نشده به طور معنی‌داری کاهش یافت. میزان فعالیت آنزیم‌های POD و CAT در گیاهان تیمار شده با KS نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد. میزان فعالیت کیتیناز در گیاهان تیمار شده با KS، در ۱۶۸ ساعت پس از تلقیح افزایش بسیار معنی‌داری نشان داد که می‌تواند نشانه‌ای از تحریک سیستم ایمنی باشد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که القاگر KS توانست روی وزن و رشد گیاهان مؤثر باشد و با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، اثرات منفی تنش زیستی در گیاهان را بهبود بخشد.

کلیدواژه‌ها: آنزیم‌های دفاعی، بلایت زودرس، قارچ بیماری‌زا، مقاومت القایی

مقدمه

گوجه فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) مهم ترین سبزی اقتصادی جهان و متعلق به خانواده سولاناسه بوده و به صورت وسیعی در سرتاسر جهان در شرایط مزرعه و گلخانه کشت می شود [1]. میزان عملکرد و کیفیت این گیاه به مقدار زیادی تحت تأثیر تنش های زیستی در مزارع یا گلخانه های تولیدی می باشد [2]. *Alternaria solani*، قارچی بیماری زا متعلق به خانواده *Ascomycota* است که سبب بیماری لکه موجی (Early blight) در گیاهان گوجه فرنگی می شود [3]. این قارچ نکروتروف، در بقایای گیاهان گوجه فرنگی یا سایر اعضای خانواده سولاناسه مثل سیب زمینی زمستان گذرانی می کند. علائم بیماری به شکل دایره های متحدالمرکز و لکه های قهوه ای با هاله زرد رنگ روی برگ، میوه و ساقه مشاهده می شوند. علائم، معمولاً از برگ های پایینی شروع شده و به سمت بالای بوته پیشروی می کنند [4]. میزان خسارت ناشی از این بیماری در مناطق آلوده دنیا ۳۵ تا ۷۸ درصد و در ایران حدود ۶۰ تا ۹۰ درصد [5] گزارش شده است. تحقیقات مؤثر در کنترل بیماری روی قارچ کش ها و عوامل کنترل زیستی متمرکز بوده است. اما استفاده از این مواد راهکار امنی برای مهار گسترش بیماری ارائه نمی دهد [6]. بیش از ۶۰ سال است که اصلاح اولیه مقاومت به این بیماری انجام شده است، اما تهیه ارقام مقاوم به بیماری به دلیل فقدان منابع مقاومت قوی در گوجه فرنگی، بیان کمی و وراثت چندژنی مقاومت با مشکل مواجه شده است. به نظر می رسد القاگرها بتوانند گیاهان را در مواجهه با این تنش ها یاری رسانند. القاگرها با عملکردهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گسترده در رشد، نمو و پاسخ های تنش گیاهان نقش آفرینی می کنند [7].

مقاومت القایی (IR) مکانیسمی در گیاهان بوده که در اثر القاگرها فعال شده و منجر به بهبود سیستم ایمنی در برابر تنش های زیستی و غیرزیستی می گردد. مقاومت القایی بر اساس تفاوت در مسیر سیگنال دهی به دو نوع مقاومت سیستمیک اکتسابی (SAR) و مقاومت سیستمیک القایی (ISR) تقسیم می شود. در مقاومت سیستمیک اکتسابی، گیاهان قادر به تولید پاسخ ایمنی بعد از آلودگی اولیه به بیماری زا می باشند. در مقاومت سیستمیک القایی ممکن است پاسخ های دفاعی به طور مستقیم فعال نشود، بلکه مکانیسم های دفاعی پایه، بسیار سریع تر و بیش تر فعالیت کنند [8]. کارکرد اصلی مقاومت القایی در مورد ژن هایی است که مقاومت ایجاد می کنند، ولی به طور معمول بیان نمی شوند. در این صورت، یک ماده القاکننده مقاومت، این ژن ها را فعال می کند و یا بیان آن ها را افزایش می دهد. القاگرها ترکیباتی هستند که با اثر مستقیم روی بیماری زا از طریق مهار رشد میسلیوم و کاهش متابولیسم بیماری زا و اثر غیرمستقیم از طریق تحریک پاسخ های دفاعی میزبان منجر به القای مقاومت می شوند [9]. به طور کلی، القای مقاومت در گیاهان از جمله راهکارهای مورد توجه محققان در مدیریت آفات و بیماری های گیاهی می باشد.

سوربات پتاسیم نمک پتاسیم سوربیک اسید است و یک آنتی اکسیدان گسترده و کارآمد که عملکردهای متعددی در گیاهان دارد [10]. استفاده از این ترکیب، تکنیکی کم هزینه و بی خطر برای محیط زیست و جایگزین امیدوارکننده ای برای قارچ کش ها می تواند باشد [11]، [12]. مطالعات مختلف حاکی از نقش القاگری سوربات پتاسیم است که بیشتر در صنایع غذایی و نگهداری میوه های پس از برداشت برای کنترل و مهار قارچها استفاده می گردد. از این ترکیب به عنوان نگهدارنده با اثر ضدقارچی [13]، [14]، [15] و به عنوان بهبوددهنده سیستم ایمنی گیاهان [11]، [16] و افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی [11] استفاده می شود. محلول پاشی سوربات پتاسیم باعث کاهش رشد قارچ *Fusarium oxysporum* در فلفل [16] و منجر به بالا رفتن آنتوسیانین، فلاونوئید، مواد جامد محلول و شاخص طعم میوه در توت فرنگی شد [17]. سوربات پتاسیم با اثر القاگری در بامیه، فعالیت آنزیم های پراکسیداز، کیتیناز و گلوکاناز را افزایش و شدت بیماری سفیدک پودری را کاهش داد [11]. اثر القاگرهای گوناگون روی پاسخ های دفاعی گوجه فرنگی در برابر *A. solani* در مطالعات مختلف گزارش شده است [18]، [19]. از آنجایی که، مطالعات اندکی بر روی تأثیر سوربات پتاسیم روی پاسخ های دفاعی گیاهان به خصوص گوجه فرنگی صورت گرفته است و اطلاعات کافی در مورد مکانیسم عمل آن در دسترس نیست. بنابراین، این مطالعه به منظور یافتن راهکاری برای تعدیل اثرات بیماری لکه موجی و جلوگیری از گسترش علائم بیماری ناشی از *A. solani* با محلول پاشی سوربات پتاسیم در گیاه گوجه فرنگی انجام گرفت و صفات مورفوفیزیولوژیکی، رنگیزه های فتوسنتزی، آنزیم های آنتی اکسیدانی و دفاعی ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه گوجه‌فرنگی از رقم استاندارد CH و از شرکت فلات به عنوان رقم تجاری تهیه شد. محل آزمایش برای کشت بذر ها، گلخانه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری بود. اتاقک کشت گلخانه با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۵ درصد و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی تنظیم گردید. برای کشت بذرها، از گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۱۷ سانتی‌متر با بستر کشت حاوی کوکوپیت، پرلیت و پیت‌ماس استفاده شد [20]. گیاهچه‌ها از مرحله دوبرگی تا ظهور اولین برگ چهارم، هر دوازده روز یکبار با میزان ۱۰۰ سی‌سی کود سه بیست مارک لبین (Labin) اسپانیا تغذیه شدند [21]. گیاهان در مرحله پنج‌برگی با القاگر سوربات‌پتاسیم با غلظت ۵ گرم‌درلیتر [22] و آب مقطر (به‌عنوان شاهد) تیمار شدند. در این مرحله تمام تیمارها برای مقایسه بهتر به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول بدون محلول‌پاشی با قارچ بیماری‌زا و گروه دوم با محلول‌پاشی با قارچ *A. solani* تلقیح گردیدند [23]. اعمال تیمار با بیماری‌زا، ۴۸ ساعت پس از تیمار با القاگر صورت گرفت. نمونه‌برداری در ۲۴، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت پس از تلقیح انجام گرفت و جهت آزمایش‌های بعدی به -80 درجه سانتی‌گراد منتقل گردید. تیمارهای آزمایش عبارت بودند از:

گروه اول	گروه دوم
شاهد (تیمار شده با آب مقطر)	شاهد (تیمار شده با آب مقطر و تلقیح شده با <i>A. solani</i>)
تیمار شده با KS	تیمار شده با KS و تلقیح شده با <i>A. solani</i>

اندازه‌گیری وزن تر و خشک اندام‌های هوایی

پس از گذشت ده روز از تلقیح با قارچ بیماری‌زا، وزن تر و خشک اندام هوایی اندازه‌گیری شد. بوته‌ها از محل طوقه بریده شده و وزن تر به‌وسیله ترازو اندازه‌گیری گردید. برای به‌دست آوردن وزن خشک از آن استفاده شد.

ارزیابی رنگیزه فتوسنتزی

برای سنجش محتوای کلروفیل، بافت پودر شده با ازن مایع به وزن 0.2 گرم با 10 سی‌سی متانول خالص مخلوط شد. سپس، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر در تاریکی قرار گرفتند. مقدار جذب فاز مایع در طول موج‌های ۶۶۵ و ۶۵۲ نانومتر با استفاده از دستگاه (BMG LABTECH, Germany) Spectrophotometer (SPECTROstar® Nano spectrophotometer) ثبت گردید. از معادله ۱ جهت برآورد مقدار کلروفیل a (Chl-a) استفاده شد [24].

$$\text{Chl-a } (\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}) = 16.72 A_{665} - 9.16 A_{652} \quad \text{رابطه ۱:}$$

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD)

برای تهیه عصاره، 0.1 گرم بافت برگ با 1800 میکرولیتر بافر فسفات - پتاسیمی سرد ($\text{pH } 7$) همگن شد. برای تخمین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز، مخلوط واکنش حاوی 2700 میکرولیتر بافر فسفات - پتاسیمی (25 میلی‌مولار)، 100 میکرولیتر بافر گایاکول (5 میلی‌مولار)، 100 میکرولیتر عصاره آنزیمی و 100 میکرولیتر محلول پراکسیددهیروژن (H_2O_2) با حجم نهایی سه میلی‌لیتر تهیه شد. افزایش جذب به وسیله تشکیل تتراگایاکول در طول موج 470 نانومتر به مدت دودقیقه (ضریب خاموشی cm^{-1} $26/6 \text{ mM}^{-1}$) ثبت شد [25]. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به صورت واحد در گرم وزن تر برآورد گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

از 0.1 گرم بافت برگ عصاره تهیه گردید. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز از طریق محاسبه جذب H_2O_2 در 240 نانومتر انجام شد [26]. این کار، بلافاصله بعد از استخراج عصاره صورت گرفت. اجزا واکنش سه میلی‌لیتری شامل 2800 میکرولیتر بافر فسفات سدیمی - پتاسیمی (50 میلی‌مولار و $\text{pH } 7$) و 150 میلی‌لیتر H_2O_2 و 50 میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. کاهش جذب در بازه زمانی دو دقیقه (ضریب خاموشی cm^{-1} $36/06 \text{ mM}^{-1}$) رآورد شد. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به صورت واحد در گرم وزن تر محاسبه شد.

اندازه گیری فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)

از ۰/۱ گرم بافت برگی عصاره تهیه شد. اجزاء واکنش شامل ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۱۰۰ میکرولیتر ریبولوین (۰/۲ میلی مولار) و ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول واکنش بود. محلول واکنش به صورت بافر فسفات - پتاسیمی ۵۰ میلی مولار (pH ۷) و EDTA ۱/۵ میلی مولار و متیونین ۱۰ میلی مولار و NBT ۷۵ میکرومولار تهیه شد. در این آزمایش، دو نمونه بلانک و شاهد به کار برده شد. بلانک برای صفر کردن دستگاه اسپکتروفوتومتر در تاریکی و بدون دریافت نور و شاهد به همراه نمونه‌ها به مدت ۶۰ ثانیه در معرض نور سفید شدید قرار گرفت. جذب آن‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد [27]. میزان فعالیت آنزیم SOD به صورت واحد در گرم وزن تر محاسبه شد.

اندازه گیری فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز (PAL)

برای سنجش فعالیت آنزیم PAL، هر واکنش شامل ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی (از ۰/۱ گرم بافت برگی به دست آمد)، ۵۰۰ میکرو لیتر تریس (۵۰ میلی مولار و pH ۷) و ۶۰ میکرو لیتر فنیل آلانین (۱۰ میلی مولار) بود که به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و ۳۰۰ rpm در ترمومیکسر قرار گرفت. سپس، برای متوقف کردن واکنش ۲۵۰ میکرو لیتر کلریدریک اسید (۴ نرمال) و یک میلی لیتر تولوئن به نمونه‌ها اضافه شد. میزان جذب سینامیک اسید در طول موج ۲۹۰ نانومتر قرائت گردید. از استاندارد سینامیک اسید با غلظت‌های صفر تا ۱۵ میکرو گرم در میلی لیتر (با $R^2 = 0.9896$ و معادله $y = 0.1726x - 0.0017$) برای تخمین میزان فعالیت آنزیم PAL استفاده شد [28] و به صورت گرم در وزن تر محاسبه شد.

اندازه گیری فعالیت آنزیم کیتیناز

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم کیتیناز، ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی (از ۰/۱ گرم بافت برگی)، ۱۶ میکرو لیتر بافر استات - سدیم (سه مولار و pH ۴) و ۳۸۴ میکرو لیتر آب تقطیر شده و ۵۰۰ میکرو لیتر کیتین کلوتیدی (یک گرم در لیتر) استفاده شد و نمونه‌ها به مدت یک ساعت در ترمومیکسر در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و رتکس شدند. بعد از یک ساعت، ۱۰۰ میکرو لیتر محلول سدیم هیدروکسید (یک مولار) به آن‌ها اضافه گردیده و سانتریفیوژ شدند. به ۵۰۰ میکرو لیتر از محلول رویی، ۲۵۰ میکرو لیتر محلول DNS اضافه و داخل بن ماری با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه گرما داده شد و سپس، در دمای محیط خنک شد. جذب نور در طول موج ۵۴۴ نانومتر اندازه گیری گردید و میزان فعالیت آنزیم کیتیناز بر اساس گرم بر وزن تر برآورد شد. منحنی استاندارد از غلظت‌های ۸۰۰ میکرو مولار تا ۲۰ میلی مولار N-استیل-D-گلوکز آمین (با $R^2 = 0.9889$ و معادله $y = 0.0214x + 0.001$) رسم شد [29].

سنجش مقدار مالون دی آلدئید (MDA)

برای اندازه گیری مقدار مالون دی آلدئید، ۰/۱ گرم نمونه برگی پودر شده با ازت مایع با ۱۵۰۰ میکرو لیتر محلول تری کلرو استیک اسید (دو درصد) هموزن شد [30]. برای سنجش MDA، به ۵۰۰ میکرو لیتر عصاره، ۱۰۰ میکرو لیتر محلول تیوباربیتوریک اسید اضافه شد و داخل حمام بن ماری در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت و سپس، بلافاصله به مدت ۳۰ دقیقه روی یخ سرد شدند. مقدار MDA با اندازه گیری جذب در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت شد. از تفاضل بین جذب در دو طول موج مذکور و استفاده از ضریب خاموشی $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ مقدار MDA به دست آمد [31].

تجزیه و تحلیل آماری

این مطالعه، به صورت اسپلیت پلات-فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. فاکتورهای آزمایش: فاکتور اول شامل سه سطح نمونه برداری در دوره‌های زمانی ۲۴، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت پس از تلقیح با بیماری‌زا، فاکتور دوم شامل بیماری‌زا با دو سطح حضور بیماری‌زا و عدم حضور بیماری‌زا، فاکتور سوم شامل القاگر با دو سطح محلول پاشی با سوربات پتاسیم و آب مقطر (به عنوان شاهد) بود. صفات وزن تر و خشک اندام هوایی با دو فاکتور بیماری‌زا و القاگر به صورت اسپلیت پلات تجزیه شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS (IBM SPSS Statistics 20) انجام گردید.

نتایج و بحث

تأثیر القاگر روی وزن تر و خشک اندام هوایی

وزن تر و خشک گیاهان گوجه‌فرنگی در یک زمان (۱۰ روز پس از تلقیح) بررسی شد و فقط تحت تأثیر بیماری‌زا و القاگر قرار گرفتند و اثر متقابل برای آن‌ها غیرمعنی‌دار بود. وزن تر و خشک بوته‌ها در گیاهان تیمار شده با KS و شاهد در حضور بیماری‌زا کمتر از گیاهان تیمار شده با KS و شاهد در عدم حضور بیماری‌زا بود و در گیاهان تیمار شده با KS در مقایسه با گیاهان شاهد، وزن تر و خشک افزایش معنی‌داری نشان داد (جدول ۱ و شکل ۱- A، B و C) ولی برهم‌کنش بیماری‌زا در القاگر معنی‌دار نبود. این نتیجه نشان داد که القاگر تأثیر مثبتی بر روی وزن بوته‌های گوجه‌فرنگی داشت. القاگرها با افزایش تقسیم و طول‌شدن سلول، افزایش تولیدات فتوسنتزی و در نتیجه حجم بزرگ‌تر بوته و سطح برگ‌های بزرگ‌تر منجر به افزایش وزن می‌شوند [32]. از آنجایی که تنش بیماری سبب ایجاد لکه‌های قهوه‌ای و در نهایت خشک‌شدن برگ‌ها می‌شود، به‌همین دلیل بعد از ده روز انتظار می‌رفت که اثر بیماری‌زا و القاگر بر روی صفات وزن تر و خشک بوته‌ها کاملاً معنی‌دار و مشهود باشد که همین روند در جریان آزمایش مشاهده شد. کم‌تر بودن وزن تر و خشک در گیاهان تلقیح‌شده، اثر مخرب و مضر بیماری‌زا بر روی گیاهان را بیان می‌کند. این نتایج با نتایج پژوهشی روی گیاه گوجه‌فرنگی مطابقت دارد [33].

جدول ۱- مقایسه میانگین پارامترهای اندازه‌گیری‌شده روی بوته‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده با KS و تلقیح‌شده با *A. solani*

Table 1- Average comparison of parameters measured on tomato plants of KS-treated and inoculated by *A. solani*

		Fresh weight	Dry weight	Chlorophyll-a
time course (hours)	24	-	-	5.17 ^a
	72	-	-	4.23 ^a
	168	-	-	4.94 ^a
pathogen	non-inoculated control	7.77 ^a	26.72 ^a	5.49 ^a
	inoculated with pathogen	5.35 ^b	17.48 ^b	4.07 ^b
inducer	control	5.84 ^b	19.49 ^b	4.72 ^a
	treated with KS	7.28 ^a	24.71 ^a	4.84 ^a

حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است (p<0.05).

Similar letters indicate non-significance (p<0.05).



A



B



C

شکل ۱- نمای کلی از گیاهان شاهد (گلدان: ۱) و تیمار شده با KS (گلدان: ۲) در شرایط تنش بیماری (A)، گیاهان شاهد و تلقیح‌شده (B) و

گیاهان تیمار شده با KS و تلقیح‌شده با *A. solani* (C) پس از گذشت ده روز از تلقیح

Figure 1- Overview of control (pot: 1) and KS-treated plants (pot: 2) in disease stress (A), control and inoculated plants (B) and plants of KS-treated and inoculated with *A. solani* (C) after 10 days of inoculation

تأثیر القاگر روی رنگیزه فتوسنتزی

نتایج نشان داد که مقدار کلروفیل a تحت تأثیر بیماری‌زا و اثر متقابل بیماری‌زا × دوره‌های زمانی قرار گرفت و سایر فاکتورها روی آن غیرمعنی‌دار بود (جدول ۲). به طوری که، مقدار کلروفیل a در گیاهان تلقیح شده (۴/۰۷ میلی گرم در گرم وزن تر) در مقایسه با گیاهان شاهد (۵/۴۹ میلی گرم در گرم وزن تر) کاهش معنی‌داری نشان داد (جدول ۱). به نظر می‌رسد که در گیاهان تحت تنش، مقدار تخریب از سنتز کلروفیل بیشتر رخ داده و در نتیجه مقدار کلروفیل کمتر شد. در بررسی اثر متقابل بیماری‌زا در دوره‌های زمانی مشخص شد که مقدار کلروفیل a در گیاهان شاهد (عدم حضور بیماری‌زا یا non-inoculated) با گذشت زمان تا ۱۶۸ ساعت پس از تلقیح تغییر معنی‌داری ایجاد نشد. اما، مقدار این رنگدانه در حضور بیماری‌زا در ۱۶۸ ساعت پس از تلقیح کاهش معنی‌داری نشان داد (شکل ۲). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که بیماری‌زا، سبب آسیب به گیاه و رنگیزه‌های فتوسنتزی شد. در شرایط تنش از تغییرات اساسی در ساختار سلول، تخریب ساختاری کلروپلاست و رنگیزه‌های فتوسنتزی است که طی آن فرآیند متابولیکی تجزیه کلروفیل و ماکرومولکول‌های دیگر اتفاق می‌افتد. نتایج بررسی‌های گذشته نشان داد که، بیماری‌زا نقش مخربی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی داشته و سبب کلروز و نکروز در بخش‌های سبز گیاه شده و انتقال آب و مواد معدنی مختل می‌شود [34]. همچنین، تولید گونه‌های فعال اکسیژن، سبب مختل شدن تولید کلروفیل و آسیب به کلروپلاست می‌شود [35]. در مطالعات پیشین، تأثیر KS در کاهش رشد و گسترش قارچ‌های بیماری‌زا به خصوص *A. solani* در محیط PDA بررسی شده است [23]، [36]. اما در مطالعه حاضر این نتیجه حاصل نگردید و قارچ بیماری‌زا سبب آسیب به سیستم فتوسنتزی شده است. این در حالی است که در پژوهشی، فسفیت‌پتاسیم توانست پاسخ‌های دفاعی گوجه‌فرنگی را فعال کند اما به بهبود رشد و رنگیزه‌های فتوسنتزی کمی نکرد [37]. علاوه بر این، در مطالعه‌ی دیگری، استفاده از نمک‌های پتاسیمی (فسفیت‌پتاسیم) به عنوان محرک‌های القایی برای تقویت پاسخ‌های دفاعی گوجه‌فرنگی نشان داد که القاگر منجر به افزایش مقدار کلروفیل a و b گردید [38].

جدول ۲- تجزیه واریانس پارامترهای اندازه گیری شده بر روی بوته های گوجه‌فرنگی تیمار شده با KS و تلقیح شده با *A. solani*

S.O.V	df	Chlorophyll-a	POD	CAT	SOD	PAL	Chitinase	MDA
time course	2	2.91 ^{ns}	62.9 ^{**}	11.79 ^{ns}	1743.9 ^{ns}	0.006 ^{ns}	1.8 ^{**}	3.56 ^{ns}
error	6	1.1	1.93	1.54	1528.4	0.002	0.05	3.01
pathogen	1	18.24 ^{**}	984.1 ^{**}	0.58 ^{ns}	225 ^{ns}	0.006 [*]	2.25 ^{**}	27.14 [*]
inducer	1	0.13 ^{ns}	86.5 ^{**}	63.97 ^{**}	148.6 ^{ns}	0.0002 ^{ns}	0.33 ^{**}	29.26 ^{**}
pathogen×inducer	1	0.2 ^{ns}	11.97 [*]	62.89 ^{**}	393.9 ^{ns}	0.0003 ^{ns}	0.28 ^{**}	3.88 ^{ns}
pathogen×time course	2	8.26 ^{**}	21.1 [*]	2.57 ^{ns}	359.8 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.58 ^{**}	7.48 ^{ns}
inducer×time course	2	1.11 ^{ns}	55.98 ^{**}	8.25 [*]	422.9 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	0.69 ^{**}	3.17 ^{ns}
pathogen×inducer×time course	2	0.75 ^{ns}	17.82 [*]	6.95 [*]	1091.9 ^{ns}	0.0001 ^{ns}	0.25 ^{**}	7.52 [*]
error	18	0.32	2.89	1.5	633.2	0.001	0.024	1.07

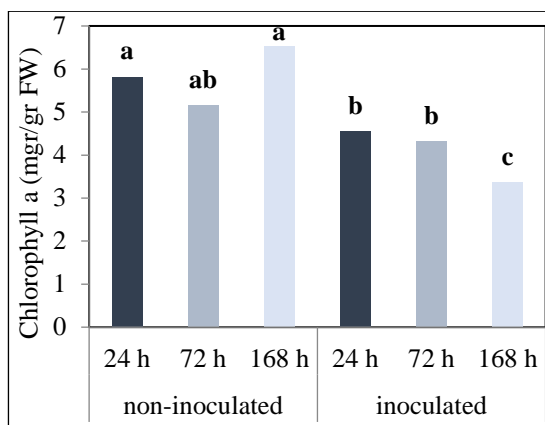
ns: به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱ و ۰/۰۵ و عدم معنی‌داری. **، *، ns: به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱ و ۰/۰۵ و عدم معنی‌داری.

** and *: significant difference at the probability level of 0.01 and 0.05, respectively; ns: non-significant.

تأثیر القاگر روی فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD)

میزان فعالیت آنزیم POD تحت تأثیر القاگر، بیماری‌زا، دوره‌های زمانی و اثرات متقابل آن‌ها قرار گرفت (جدول ۲). میزان فعالیت آنزیم POD در گیاهان تیمار شده با KS نسبت به شاهد افزایش یافت و همچنین بیش‌ترین فعالیت این آنزیم در گیاهان تلقیح شده نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد. گیاهان در ۷۲ و ۱۶۸ ساعت فعالیت آنزیم POD بالاتری نسبت به ۲۴ ساعت نشان دادند (جدول ۳). بررسی اثر متقابل بیماری‌زا × القاگر × دوره‌های زمانی مشخص کرد که میزان فعالیت آنزیم POD در طول زمان افزایش یافته است و گیاهان تیمار شده با KS و تلقیح شده با بیماری‌زا در ۱۶۸ ساعت بیشترین میزان فعالیت این آنزیم را به خود اختصاص دادند و این روند افزایشی را با اختلاف معنی‌دار نسبت به ۲۴ و ۷۲ ساعت نشان دادند. گیاهان شاهد و تلقیح شده با گیاهان تیمار شده با KS و تلقیح نشده و شاهد و تلقیح نشده تفاوت معنی‌داری از این نظر نشان ندادند و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم POD در این تیمارها مشاهده شد (شکل ۳- A). پاسخ اولیه و زود هنگام در برهم‌کنش گیاه با قارچ بیماری‌زا، افزایش فعالیت آنزیم POD می‌باشد تا با سنتز لیگنین از تجزیه دیواره سلولی محافظت شده و مانع نفوذ بیماری‌زا می‌گردد [39]. تولید رادیکال‌های آزاد فنل‌ها، سنتز فیتوالکسین‌ها و لیگنین‌ها، استحکام دیواره آوند چوبی، محدود کردن گسترش بیماری‌زا از نقش‌های فیزیولوژیکی پراکسیدازها می‌باشد [41]. از طرف دیگر، با گذشت زمان و گسترش حمله بیماری‌زا به گیاه و در نتیجه آسیب شدیدتر سلول‌های گوجه‌فرنگی،

مقادیر H_2O_2 افزایش می‌یابد که این امر خود منجر به افزایش ROS ها می‌گردد. بالارفتن فعالیت این آنزیم، مقادیر اضافی H_2O_2 موجود در سلول‌های آسیب‌دیده را زودده و از تجمع ROS ها جلوگیری به عمل می‌آورد [41]. پراکسیدازها می‌توانند H_2O_2 را به آب تبدیل کنند و مجموعه‌ای متشکل از آنزیم‌های چرخه اسکوبات -گلوکاتایتون ردوکتاز هستند. این آنزیم نقش مهم و کلیدی در تنش‌های محیطی برای القای مقاومت در گیاهان بازی می‌نماید [42]. این نتایج در پژوهشی روی گیاه بامیه هماهنگ است که نشان داد که میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز پس از تلقیح با قارچ عامل بیماری سفیدک داخلی افزایش معنی‌داری یافت [11].



شکل ۲- مقدار کلروفیل a در گیاهان شاهد (non-inoculated) و گیاهان تلقیح شده با *A. solani* (inoculated) در ۲۴، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت پس از تلقیح (A) و مقدار کلروفیل b در گیاهان شاهد و تیمار شده با KS (B). مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه ای دانکن انجام شده است. حروف مشابه نشان‌دهنده، عدم معنی‌داری می‌باشد ($p < 0.05$)

Figure 2- The amount of chlorophyll-a in control plants (non-inoculated) and plants inoculated with *A. solani* (inoculated) after 24, 72 and 168 hours post inoculation (A) and the amount of chlorophyll-b in control plants and KS-treated plants. Average data comparison was performed using Duncan's test. Similar letters indicate non-significance ($p < 0.05$)

جدول ۳- مقایسه میانگین پارامترهای اندازه گیری شده روی بوته های گوجه‌فرنگی تیمار شده با KS و تلقیح شده با *A. solani*

Table 3- Average comparison of parameters measured on tomato plants of KS-treated and inoculated by *A. solani*

		POD	CAT	SOD	PAL	Chitinase	MDA
time course (hours)	24	14.07 ^b	22.19 ^a	80.2 ^a	0.048 ^b	0.03 ^b	6.54 ^a
	72	18.02 ^a	20.35 ^a	68.27 ^a	0.044 ^b	0.77 ^a	5.68 ^a
	168	18.05 ^a	20.61 ^a	92.38 ^a	0.084 ^a	0.64 ^a	5.53 ^a
Pathogen	non-inoculated control	11.48 ^b	21.18 ^a	77.78 ^b	0.046 ^b	0.23 ^b	6.79 ^a
	inoculated with pathogen	21.94 ^a	20.92 ^a	82.78 ^a	0.072 ^a	0.73 ^a	5.05 ^b
inducer	control	15.16 ^b	19.72 ^b	82.31 ^a	0.05 ^b	0.38 ^b	6.82 ^a
	treated with KS	18.26 ^a	22.38 ^a	78.25 ^a	0.06 ^a	0.58 ^a	5.02 ^b

حروف مشابه نشان‌دهنده، عدم معنی‌داری است ($p < 0.05$).

Similar letters indicate non-significance ($p < 0.05$).

تأثیر القاگر روی فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

میزان فعالیت آنزیم CAT تحت تأثیر معنی‌دار القاگر و اثر متقابل بیماری زرا القاگر × دوره‌های زمانی قرار گرفت (جدول ۲). میزان فعالیت آنزیم CAT در گیاهان تیمار شده با KS در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد (جدول ۳). مقایسه میانگین اثر متقابل بیماری زرا × القاگر × دوره‌های زمانی نشان داد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم CAT در گیاهان تیمار شده با KS و تلقیح نشده در ۲۴ ساعت (۲۶/۴۶ واحد بر گرم وزن تر) به دست آمد. کمترین میزان فعالیت این آنزیم در گیاهان شاهد و تلقیح نشده در هر سه بازه زمانی مشاهده شد. افزایش میزان فعالیت این آنزیم در ۲۴ ساعت ابتدای تلقیح در گیاهان تیمار شده با KS و تلقیح نشده و همچنین، گیاهان تیمار شده با KS و شاهد و تلقیح شده در مقایسه با شاهد و تلقیح نشده مشاهده شد ولی سپس در ۷۲ و ۱۶۸ ساعت این میزان کاهش یافت (شکل ۳-B) به نظر می‌رسد که بالارفتن میزان فعالیت آنزیم CAT در ۲۴ ساعت نشان‌دهنده فعالیت زود هنگام این آنزیم در شرایط تنش است. افزایش معنی‌دار در تیمار KS نسبت به شاهد در گیاهان تلقیح نشده از اثر مثبت القاگر حمایت می‌کند که در مطالعه‌ای مشابه روی بیماری لکه‌موجی گوجه‌فرنگی مشخص شد که القاگر، آنزیم کاتالاز را افزایش داده است [43] که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد. اما از آنجایی که در گیاهان تیمار شده با KS و تلقیح شده در هر سه بازه زمانی نسبت به شاهد و تلقیح شده تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۳-B) می‌توان ادعا داشت که اثر قارچ *A. solani* بر گیاه از اثر القاگر بر

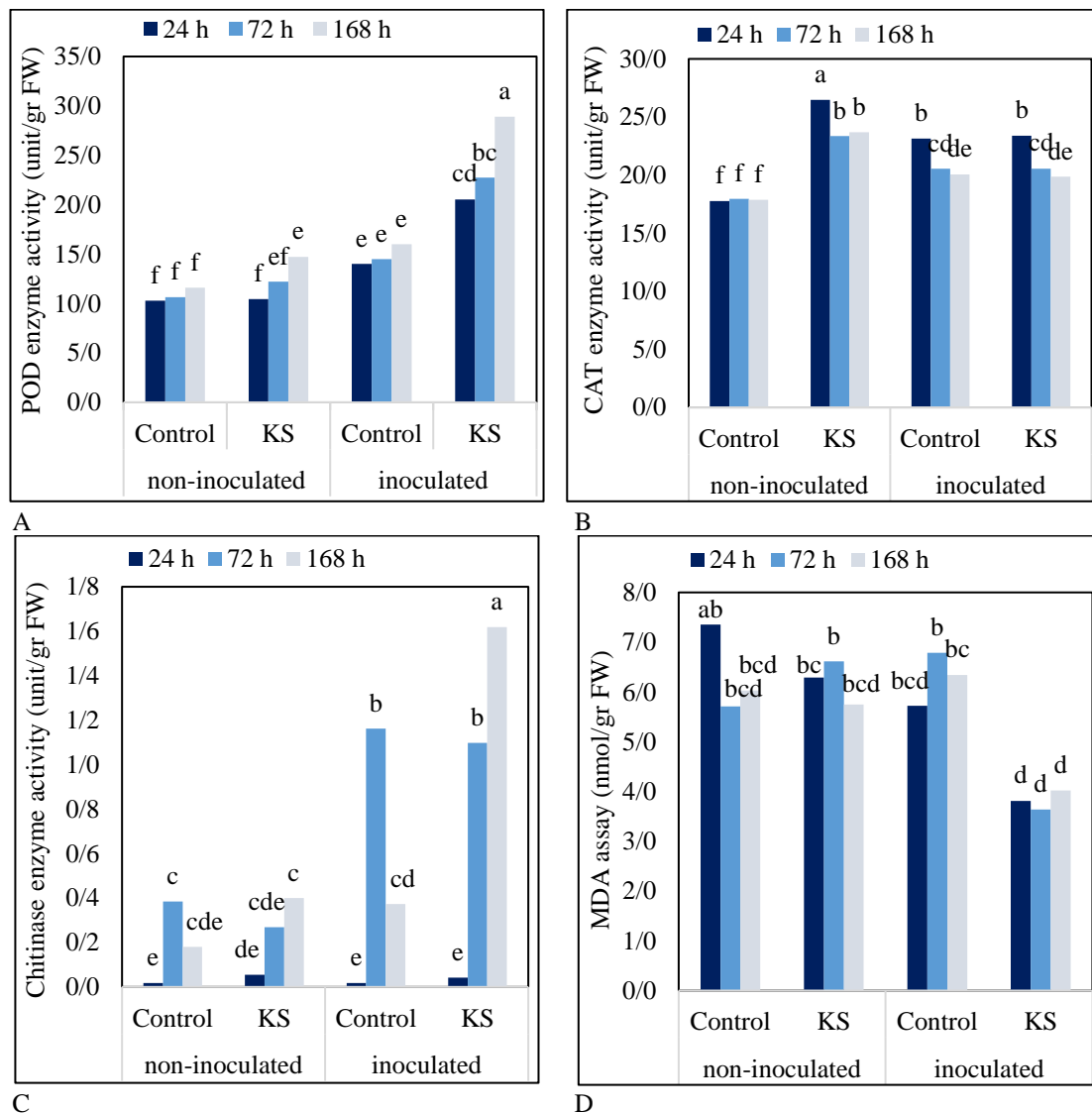
مسیر فعالیت این آنزیم موفق تر عمل کرده است. به طور کلی می توان گفت نقش آنزیم کاتالاز از پراکسیداز در القای پاسخ های دفاعی کم تر بود که در بعضی تحقیقات نیز اثبات شده است [44]. آنزیم کاتالاز سلول را در مقابل اثرات زیان بار اکسیداتیو با حذف H_2O_2 محافظت می کند [43].

تأثیر القاگر روی فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلیاز (PAL)

میزان فعالیت آنزیم PAL فقط تحت تأثیر بیماری زا تفاوت معنی داری نشان داد. بقیه فاکتورهای مورد بررسی و اثرات متقابل آن ها اختلاف معنی داری از نظر فعالیت این آنزیم نشان ندادند (جدول ۲). بیشترین فعالیت آنزیم PAL در تیمارهای KS و شاهد در گیاهان تلقیح شده در مقایسه با تیمارهای KS و شاهد در گیاهان تلقیح نشده مشاهده شد (جدول ۳). در زمان تنش بیماری، فنیل آلانین آمونیلیاز با افزایش لیگنینی کردن دیواره سلولی و سنتز متابولیت های ثانویه نقش مهمی در کاهش گسترش بیماری دارد [45]. از مهم ترین پاسخ های گیاه به تنش های زیستی، آنزیم PAL است که آنزیم اصلی مسیر فنیل پروپانوئید محسوب می شود. آنزیم PAL، اصلی ترین و نخستین آنزیم مسیر بیوسنتز ترکیبات فنلی است که L- فنیل آلانین را به اسید ترانس سینامیک تبدیل می کند و بدین ترتیب، متابولیت های ثانویه ای مانند ترکیبات فنلی، لیگنین ها و فیتوالکسین ها سنتز می شوند [46]. در مطالعات متعددی افزایش آنزیم PAL در شرایط تنش بیماری اتفاق افتاده است [28]، [33].

تأثیر القاگر روی فعالیت آنزیم کیتیناز

میزان فعالیت آنزیم کیتیناز تحت تأثیر معنی دار القاگر، بیماری زا و دوره های زمانی و همچنین اثرات متقابل آن ها قرار گرفت (جدول ۲). بر طبق جدول ۳، پایین ترین میزان فعالیت آنزیم کیتیناز در طی ۲۴ ساعت و بالاترین میزان آن، در زمان ۷۲ و ۱۶۸ ساعت پس از تلقیح مشاهده گردید. میزان کیتیناز در گیاهان تلقیح شده در مقایسه با گیاهان تلقیح نشده افزایش معنی داری یافت. همچنین، بالاترین فعالیت آنزیم کیتیناز در گیاهان تیمار شده با KS نسبت به گیاهان شاهد به دست آمد (جدول ۳). اثر متقابل بیماری زا × القاگر × دوره های زمان نشان داد که میزان فعالیت آنزیم کیتیناز در گیاهان تیمار شده با KS و تلقیح شده در ۱۶۸ ساعت (۱/۶۲ واحد در گرم وزن تر) افزایش بسیار معنی داری نسبت به شاهد نشان داد. در همه تیمارهای تلقیح شده و نشده در طی ۲۴ ساعت اول، میزان آنزیم کیتیناز کمتر بود. این امر حاکی از آنست که آنزیم کیتیناز برای فعالیت بیشتر، نیاز به گذشت زمان و افزایش شدت بیماری دارد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در گیاهان تیمار شده با KS و شاهد در عدم تنش بیماری (تلقیح نشده) در هر سه بازه زمانی تفاوت معنی داری با یکدیگر مشاهده نشد. به عبارت دیگر، آنزیم کیتیناز در صورت مواجه شدن با قارچ بیماری زا افزایش فعالیت دارد. مقایسه گیاهان تیمار شده با KS و شاهد در تنش بیماری (تلقیح شده) در هر سه بازه زمانی تأثیر مثبت القاگر بر افزایش فعالیت این آنزیم را نشان داد. به طوری که، در ۷۲ ساعت با شدت گرفتن بیماری و حمله گسترده بیماری زا در هر دو گیاهان تیمار شده با KS و شاهد افزایش بسیار معنی داری در میزان فعالیت آنزیم کیتیناز مشاهده شد ولی، این افزایش در گیاهان تیمار شده با KS در ۱۶۸ ساعت ادامه یافت. در صورتی که، در گیاهان شاهد در ۱۶۸ ساعت فعالیت آنزیم کیتیناز کاهش بسیار معنی داری نشان داد (شکل ۳-C) آنزیم های کیتیناز در مقابل آلودگی های قارچی از تخریب دیواره سلولی گیاهان پشتیبانی می نمایند [47]. کیتین، گلوکان و گلیکوپروتئین محتوای تشکیل دهنده دیواره سلولی قارچ ها می باشند که آنزیم های کیتیناز، محتوای کیتین دیواره سلولی قارچ های بیماری زا را تجزیه کرده و از گسترش بیماری جلوگیری می کنند [48]. محلول پاشی سوربات پتاسیم برای القای پاسخ های ایمنی در گیاه *Abelmoschus esculentus* L. نسبت به بیماری سفیدک پودری نشان داد که KS سبب کاهش شدت بیماری، افزایش محتوای فنل کل و پروتئین گردید و همچنین، فعالیت آنزیم های پراکسیداز، کیتیناز و گلوکاناز را افزایش داد [11] در مطالعات مختلف، آنزیم کیتیناز در گیاهچه های گوجه فرنگی تحت تنش بیماری افزایش یافته و منجر به فعال کردن پاسخ های دفاعی در برابر بیماری زا شد [43]، [49] که با این نتایج هم خوانی دارد.



شکل ۲- میزان فعالیت آنزیم های پراکسیداز (A)، کاتالاز (B) و کیتیناز (C) و شاخص مالون‌دی‌آلدئید (D) در گیاهان شاهد و گیاهان تیمار شده با KS در ۲۴، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت پس از تلقیح در گیاهان تلقیح‌نشده (non-inoculated) و گیاهان تلقیح‌شده با *A.solani* (inoculated). مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شده است. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم معنی داری می‌باشد ($p < 0.05$)

Figure 2- The enzymes activity of peroxidase (A), catalase (B) and chitinase (C) and malondialdehyde index (D) in control plants and KS- treated of plants at 24, 72, and 168 hours post inoculation in non-inoculated plants and plants of inoculated with *A.solani*. Average data comparison was performed using Duncan's test. Similar letters indicate non-significance ($p < 0.05$)

تأثیر القاگر روی پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء

القاگر، بیماری‌زا و اثر متقابل بیماری‌زا × القاگر × دوره‌های زمانی، مقدار مالون‌دی‌آلدئید را تحت تأثیر قرار دادند (جدول ۲). مقدار مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در گیاهان تلقیح‌شده با قارچ بیماری‌زا نسبت به گیاهان تلقیح‌نشده کمتر بود و گیاهان تیمار شده با KS مقدار MDA پایین تری در مقایسه با گیاهان شاهد داشتند. مقدار MDA تحت تأثیر زمان نبود و تغییر معنی‌داری از نظر دوره‌های زمانی در مقدار آن مشاهده نشد (جدول ۳). اثر متقابل بیماری‌زا × القاگر × دوره‌های زمانی نشان داد که پایین‌ترین مقدار MDA، در گیاهان تیمار شده با KS و تلقیح‌شده مشاهده شد. مقایسه گیاهان تیمار شده با KS در مقابل شاهد در تنش بیماری نشان داد که گیاهان تیمار شده با القاگر در مواجهه با بیماری‌زای *A. solani* اثر مثبتی بر پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی گذاشتند و این گیاهان را در برابر آسیب‌های ناشی از گسترش بیماری محافظت کردند. مقدار MDA در گیاهان تیمار شده با KS و شاهد در عدم تنش بیماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند (شکل ۳-D). از مهم‌ترین شاخص اندازه‌گیری واکنش‌های پراکسیداسیون لیپیدها، مالون‌دی‌آلدئید است که در شرایط تنش، با پراکسیداسیون چربی‌های غشاء مقدار تولید آن افزایش می‌یابد که تداوم شرایط تنش و بالا رفتن تولید MDA، منجر به گسستگی ساختار غشاء و در نهایت مرگ سلول می‌گردد [50]. نتایج ارائه‌شده در این مطالعه

حاکمی از کاهش قابل ملاحظه در مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در گیاهان تیمار شده با KS در تنش بیماری می باشد. این کاهش MDA، نشان دهنده نقش موثر القاگر در برهم کنش با بیماری زا است که منجر به راه انداختن پاسخ دفاعی شده است. بالا بودن مقدار MDA در گوجه فرنگی های شاهد نسبت به تیمار KS حاکی از تشکیل ممتد رادیکال های فعال اکسیژن است که این رادیکال های فعال اکسیژن با لیپیدها واکنش داشته و سبب اکسیده شدن اسید چرب می شوند و از این طریق سبب تخریب چربی ها و غشاهای سلولی می گردند [51]. مطالعات مختلفی روی گیاهچه های گوجه فرنگی تحت تنش *A. solani* از کاهش پراکسیداسیون با کاربرد القاگرها انجام شده است [12]، [43].

نتیجه گیری

در این مطالعه، آنزیم های پراکسیداز و کیتیناز تأثیر بسیار معنی داری روی کاهش گسترش بیماری داشتند. هم چنین، قارچ بیماری زا نقش مخربی بر روی کلروفیل a داشته و سبب کلروز و نکروز در بخش های سبز گیاه شد. به نظر می رسد سوربات پتاسیم توانست منجر به القای سیستم دفاعی با افزایش آنزیم های آنتی اکسیدانی گردد و بدین ترتیب از گیاه در برابر حملات قارچ *A. solani* محافظت شد. برای بحث های بیشتر در مورد عملکرد دقیق سوربات پتاسیم روی گیاهان نیاز به مطالعات بعدی است.

اعلام تعارض منافع

نویسندگان این پژوهش اعلام می دارند که در رابطه با انتشار مقاله ارائه شده هیچ گونه تضاد منافی وجود ندارد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری برای اجرای این پژوهش اعلام می دارند.

منابع

- [1] Mauro, R.P., Rizzo, V., Leonardi, C., Mazzaglia, A., Muratore, G., Distefano, M., Sabatino, L. & Giuffrida, F. (2020). Influence of harvest Stage and rootstock genotype on compositional and sensory profile of the elongated tomato cv. "Sir Elyan". *Agriculture*, 10 (3), 82.
- [2] Cham, A.K., Ojeda-Zacarias, M. del C., Lozoya-Saldana, H., Olivares-Saenz, E., Alvarado-Gomez, O.G. & Vazquez-Alvarado, R.E. (2022). Effects of elicitors on the growth, productivity and health of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) under greenhouse conditions. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 24 (5), 1129-1142.
- [3] Saltos-Rezabala, L.A., Silveira, P.R.D., Tavares, D.G., Moreira, S.I., Magalhaes, T.A., Botelho, D.M.D.S. & Alves, E. (2022). Thyme essential oil reduces disease severity and induces resistance against *Alternaria linariae* in tomato plants. *Horticulturae*, 8 (10), 919.
- [4] Adhikari, P., Oh, Y. & Panthee, D.R. (2017). Current status of early blight resistance in tomato: An update. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 18(10).
- [5] Nurollahi, K. & Hasani, M. (2017). Genetic diversity of *Alternaria alternata* causal agent of early blight of tomato in Khuzestan province using SSRs markers. *Journal of Plant Protection*, 30 (4), 573-586.
- [6] Ghosh, A., Lahiri, S., Das, A. & Kundu, S. (2022). Molecular defence response in tomato against *Alternaria* blight: an over view. *Journal of Mycopathology Research*, 60 (1), 23-32.
- [7] Jin, L., Cai, Y., Sun, C., Huang, Y. & Yu, T. (2019). Exogenous L-glutamate treatment could induce resistance against *Penicillium expansum* in pear fruit by activating defense-related proteins and amino acids metabolism. *Postharvest Biology and Technology*, 150, 148-157.
- [8] Dezhabad, M., Taheri, H. & Pakdaman Sardrood, B. (2020). Transcriptional response of defensive and regulatory genes involved in tomato plant hormone signaling pathways against *Fusarium* Wilt. *Journal of Plant Molecular Breeding*, 8 (1), 48-56.
- [9] Gowthami, L. (2018). Role of elicitors in plant defense mechanism. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7 (6), 2806-2812.
- [10] Engel, F., Pinto, L.H., Del Ciampo, L.F., Lorenzi, L., Teixeira Heyder, C.D., Häder, D.P. & Erzinger, G.S. (2015). Comparative toxicity of physiological and biochemical parameters in *Euglena gracilis* to short-term exposure to potassium sorbate. *Ecotoxicology*, 24 (1), 153-162.
- [11] Soliman, M.H. & El-Mohamedy, R.S.R. (2017). Induction of defense-related physiological and antioxidant enzyme response against powdery mildew disease in okra (*Abelmoschus esculentus* L.) plant by using chitosan and potassium salts. *Mycobiology*, 45 (4), 409-420.

- [12] Molaei, S., Soleimani, A., Rabiei, V. & Razavi, F. (2021). Impact of chitosan in combination with potassium sorbate treatment on chilling injury and quality attributes of pomegranate fruit during cold storage. *Journal of Food Biochemistry*, 45 (4), e13633.
- [13] Olivier, C., Macneil, C.R. & Loria, J. (1999). Application of organic and inorganic salts to field-grown potato tubers can suppress silver scurf during potato storage. *Plant Disease*, 83 (9), 814-818.
- [14] Fodil, S., Delgado, J., Varvaro, L., Yaseen, T. & Rodríguez, A. (2018). Effect of potassium sorbate (E-202) and the antifungal PgAFP protein on *Aspergillus carbonarius* growth and ochratoxin A production in raisin simulating media. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98 (15), 5785-5794.
- [15] Bilal, H. & Hashmi, M.S. (2023). Combination of rosemary oil and potassium sorbate controls anthracnose in mango fruit by triggering defense-related enzymes. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 127, 102112.
- [16] Ragab, M.M., Ashour, A.A., Abdel-Kader, M.M., El-Mohamady, R. & Abdel-Aziz, A. (2012). In vitro evaluation of some fungicides alternatives against *Fusarium Oxysporum* the causal of wilt disease of pepper (*Capsicum annum* L.). *International Journal of Accounting and Finance*, 2 (2), 70-77.
- [17] Hosseini, F., Amiri, M.H. & Razavi, F. (2019). Improvement of anthocyanin and antioxidant properties of strawberry (cv. Amaros) by calcium lactate and potassium sorbate application. *Plant productions*, 42 (4), 455-468.
- [18] Jones, R.W. & Frances, P. (2023). Differential plant response to toxins and elicitor proteins released by the potato and tomato pathogens *Alternaria solani* and *Alternaria alternata*. *Journal of Plant Pathology*, 105, 21-28.
- [19] Wang, C., Wang, J., Zhang, D., Cheng, J., Zhu, J. & Yang, Z. (2023). Identification and functional analysis of protein secreted by *Alternaria solani*. *PLOS ONE*, 18 (3), e0281530.
- [20] MirseyedHosseini, M., Alavipoor, E. & Delshad, E. (2017). Evaluation of different growth media for tomato seedlings to optimize production and water use. *Iran Agricultural Research*, 36 (2), 61-70.
- [21] Boteva, H. (2016). Productivity and quality of open field tomato after application of bio-fertilizers. *Agricultural Science and technology*, 8 (2), 140-143.
- [22] Mirzadeh, Z., Najafiniya, M. & Ramezani, H. (2021). The antifungal activity of some chemical salts against *Fusarium oxysporum* f. sp. radicis-cucumerinum causing cucumber root and stem rot disease. *Journal of Crop Protection*, 10 (1), 107-117.
- [23] Jabnoun-Khiareddine, H., Abdallah, R., El-Mohamedy, R., Abdel-Kareem, F., Gueddes-Chahed, M., Hajlaoui, A. & Daami-Remadi, M. (2016). Comparative efficacy of potassium salts against soil-borne and air-borne fungi and their ability to suppress tomato wilt and fruit rots. *Journal of Microbial and Biochemical Technology*, 8 (2), 045- 055.
- [24] Lichtenthaler, H.K. & Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, F4.3.1-F4.3.8.
- [25] Tang, W. & Newton, R.J. (2005). Polyamines reduce salt-induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine. *Plant Growth Regulation*, 46, 31-43.
- [26] Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105,121-126.
- [27] Beauchamp, C. & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44 (1), 276-287.
- [28] Goldson, A., Lam, M., Scaman, C.H., Clemens, S. & Kermode, A. (2008). Screening of phenylalanine ammonia lyase in plant tissues, and retention of activity during dehydration. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88 (4), 619-625.
- [29] Boller, T., Gehri, A., Mauch, F. & Vogeli, U. (1983). Chitinase in bean leaves: induction by ethylene, purification, properties, and possible function. *Planta*, 157, 22-31.
- [30] Junglee, S., Urban, L., Sallanon, F. & Lopez-Lauri, F. (2014). Optimized assay for hydrogen peroxide determination in plant tissue using potassium iodide. *American Journal of Analytical Chemistry*, 5, 730-736.
- [31] Ohkawa, H., Ohishi, N. & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95 (2), 351-358.
- [32] Bakry, B.A., El-Hariri, D.M., Mervat, S.S., & El-Bassiouny, H.M.S. (2012). Drought stress mitigation by foliar application of salicylic acid in two linseed varieties grown under newly reclaimed sandy soil. *Journal of Applied Sciences Research*, 8 (7), 3503-3514.
- [33] El-Mohamedy, R., Jabnoun-Khiareddine, H. & Daami-Remadi, M. (2014). Control of root rot diseases of tomato plants caused by *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* using different chemical plant resistance inducers. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 9 (1), 45-55.
- [34] Rabiei, Z., Hosseini, S., Dehestani, S., Pirdashti, H. & Beiki F. (2022). Exogenous hexanoic acid induced primary defense responses in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants infected with *Alternaria solani*. *Scientia Horticulturae*, 295, 110841.
- [35] Ma, B.L., Morison, M.J. & Videng, H.D. (1995). Leaf greenness and photosynthetic rates in soybean. *Crop Science*, 35 (5), 1411-1414.
- [36] Nikolov, A. & Ganchev, D. (2011). In vitro antifungal examination of potassium sorbate towards some phytopathogens. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 17 (2), 191-194.
- [37] Vinas, M., Mendez, J.C. & Jiménez, V.M. (2020). Effect of foliar applications of phosphites on growth, nutritional status and defense responses in tomato plants. *Scientia Horticulturae*, 265, 109200.
- [38] Silva, B., Picanço, B., Hawertho, C., Silva, L. & Rodrigues, F. (2022). Physiological and biochemical insights into induced resistance on tomato against septoria leaf spot by a phosphite combined with free amino acids. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 120, 101854.

- [39] Youssef, S.A., Tartoura, K.A. & Greash, A.G. (2018). *Serratia proteamaculans* mediated alteration of tomato defense system and growth parameters in response to early blight pathogen *Alternaria solani* infection. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 103, 16-22.
- [40] Deepak, S., Niranjana-Raja, S., Shailasreea, S., Kinia, R.K., Boland, W., Shetty, H. & Mithofer, A. (2007). Induction of resistance against downy mildew pathogen in pearl millet by a synthetic jasmonate analogon. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 71 (1-3), 96-105.
- [41] Allen, R.D. (1995). Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. *Plant Physiology*, 107 (4), 1049-1054.
- [42] Meloni, D.A., Oliva, M.A., Martinez, C.A. & Cambraia, J. (2003). Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 49 (1), 69-76.
- [43] Khalil, M., Youssef, S., Tartoura, K. & Eldesoky, A. (2021). Comparative evaluation of physiological and biochemical alteration in tomato plants infected by *Alternaria alternata* in response to *Trichoderma viride* and *Chaetomium globosum* application. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 115, 101671.
- [44] Farhoudi, R. (2011). Investigating the effect of salinity stress on vegetative growth, antioxidant enzyme activity and malondialdehyde concentration in rapeseed leaves. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 9 (1), 123-130.
- [45] Waewthongrak, W., Pisuchpen, S. & Leelasuphakul, W. (2015). Effect of *Bacillus subtilis* and chitosan applications on green mold (*Penicillium digitatum* Sacc.) decay in citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 99, 44-49.
- [46] Randhir, R., Vatter, D.A. & Shetty, K. (2006). Antioxidant enzyme response studies in H₂O₂-stressed porcine muscle tissue following treatment with fava bean sprout extract and L-DOPA. *Journal of Food Biochemistry*, 30 (6), 671-698.
- [47] Mir, Z.A., Ali, S., Singh, A., Yadav, P., Tyagi, A., Chaturani, G.D.G. & Grover, A. (2021). In silico analysis and overexpression of chitinase class IV gene in *Brassica juncea* improves resistance against *Alternaria brassicae*. *Industrial Crops and Products*, 169, 113555.
- [48] Dahiya, N., Tewari, R., Tiwari, R.P. & Hoondal, G.S. (2005). Chitinase from *Enterobacter* spp. NRG4: its purification, characterization and reaction pattern. *Electronic Journal of Biotechnology*, 8 (2).
- [49] Rai, S., Kashyap, P., Kumar, S., Kumar Srivastava, A. & Ramteke W.P. (2016). Identification, characterization and phylogenetic analysis of antifungal *Trichoderma* from tomato rhizosphere. *SpringerPlus*, 5 (1), 1939.
- [50] Leul, M., & Zhou, W.J. (1999). Alleviation of waterlogging damage in winter rape by uniconazole application: effects on enzyme activity, lipid peroxidation and membrane integrity. *Journal of Plant Growth Regulation*, 18, 9-14.
- [51] Li, Q.Y., Niu, H.B., Yin, J., Wang, M.B., Shao, H.B., Deng, D.Z., Chen, X.X., Ren, J.P. & Li, Y.C. (2008). Protective role of exogenous nitric oxide against oxidative stress induced by salt stress in barley (*Hordeum vulgare*). *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 65 (2), 220-225.