Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)

49(2), Summer, 2026

10.22055/ppr.2026.51752.1882

Evaluation of pathogenic diversity in *Verticillium dahliae* and defense mechanisms of different cotton cultivars against Verticillium wilt disease

N. Khaledi[1*], M. Razi Nataj Aghamahli[2], A. Hamidi[1], S. Sheidaei[1], F. Hassani[1]

1. ***Corresponding Author:** Seed and Plant Certification and Registration Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran (n_khaledi@areeo.ac.ir)
2. Cotton Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Gorgan, Iran

Received: 6 February 2026 Revised: 21 June 2026 Accepted: 6 July 2026

Abstract

Background and Objectives

Verticillium wilt, caused by the soil-borne hemibiotrophic fungus *Verticillium dahliae* Kleb., is one of the most serious diseases affecting cotton production worldwide. The pathogen persists in soil for prolonged periods as microsclerotia, penetrates host plants through the roots, and colonizes the xylem vessels, resulting in vascular blockage, physiological dysfunction, and significant yield losses. Despite the considerable economic importance of cotton, no cultivar with complete and stable resistance to Verticillium wilt has been reported to date. Therefore, understanding cultivar-specific responses at both agronomic and biochemical levels is essential for identifying relatively resistant genotypes and developing effective disease management strategies. Moreover, pathogen-host interactions can vary substantially depending on environmental conditions and cultivar genetic backgrounds, underscoring the need to evaluate multiple genotypes across diverse settings. This study aimed to (i) evaluate the susceptibility of different cotton cultivars to Verticillium wilt, (ii) examine the effects of the disease on agronomic traits and yield components, and (iii) investigate the biochemical defense mechanisms associated with basal resistance.

Materials and Methods

The experiments were conducted under two distinct conditions: a naturally infected field site and a greenhouse environment with artificial inoculation using *V. dahliae*. Field experiments were conducted at the Karkandeh research station, a site with a long history of natural *V. dahliae* infestation, providing a realistic setting for evaluating cultivar-specific responses to the pathogen under natural disease pressure. Nine cotton cultivars were evaluated, including seven imported cultivars, Erguven, Efe09, GW22-1361, GW22-1513, PM39, May509, and Ashor, and two local cultivars used as reference controls, namely Varamin, susceptible, and Golestan, moderately resistant. The disease index and incidence of Verticillium wilt were recorded and evaluated throughout the growing season. In addition, agronomic traits, including plant height, branch characteristics, boll number, boll weight, earliness, and yield, were measured. Biochemical analyses were conducted at multiple time points after inoculation to quantify total protein content, phenolic compound accumulation, lignin deposition, and the activities of key defense-related enzymes, including superoxide dismutase, guaiacol peroxidase, polyphenol oxidase, and phenylalanine ammonia-lyase. Statistical analyses were performed to characterize genotype-specific responses and to examine relationships among the disease index, agronomic traits, and biochemical indicators.

Results

The results indicate that the soil population of *V. dahliae* progressively increased throughout the growing season, confirming active pathogen-host interactions. Significant variation was observed among the cotton cultivars in disease incidence, disease index, agronomic performance, and biochemical responses. Among the cultivars tested, GW22-1513 showed a significantly lower disease index and superior agronomic traits, and the fastest activation of defense-related enzymes, accompanied by higher accumulation of phenolic compounds and lignin deposition. Relatively resistant cultivars, such as GW22-1361 and Ashor, also showed stronger biochemical defense responses than susceptible cultivars, although to a lesser degree than GW22-1513. Trait relationship analyses revealed that rapid and efficient activation of antioxidant and defense mechanisms was closely associated with a reduced disease index and the maintenance of plant growth and yield. Furthermore, the findings indicate that specific biochemical markers, particularly phenolic accumulation and lignin deposition, can serve as reliable indicators of basal resistance and may help predict cultivar performance under pathogen pressure.

Discussion

Resistance to Verticillium wilt in cotton is closely linked to the rapid induction of biochemical defense mechanisms and the preservation of agronomic traits. Increased activities of antioxidant and defense-related enzymes, together with greater lignification and phenolic accumulation, appear to play a central role in limiting pathogen spread and reducing disease-related damage. The superior performance of GW22-1513 suggests that this cultivar combines favorable agronomic traits with strong defense responses, making it a promising candidate for cultivation in *Verticillium*-infested areas. This study provides detailed insight into the interactions between cotton cultivars and Verticillium wilt and offers valuable information for breeding programs and the selection of resistant cultivars. Collectively, integrating agronomic and biochemical assessments establishes a sound framework for identifying resistant cotton cultivars and improving the sustainable management of Verticillium wilt.

Keywords: Superoxide Dismutase, Polyphenol Oxidase, Phenylalanine Ammonia-Lyase, Guaiacol Peroxidase, Basal Resistance

Associate editor: S. Abbasi (Ph.D.)

Citation: Khaledi, N., Razi Nataj Aghamahli, M., Hamidi, A., Sheidaei S. & Hassani, F. (2026). Evaluation of Pathogenic Diversity in *Verticillium dahliae* and Defense Mechanisms of Different Cotton Cultivars Against Verticillium Wilt Disease. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, *49*(2), 39-70. https://doi.org/10.22055/ppr.2026.51752.1882

گیاه‌پزشکی (مجله علمی کشاورزی)
جلد ۴۹، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۵

10.22055/ppr.2026.51752.1882

ارزیابی تنوع بیماریزایی *Verticillium dahliae* و سازوکارهای دفاعی ارقام مختلف پنبه به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی

نیما خالدی[1*]، محمد رضی نتاج آقامحلی[2]، آیدین حمیدی[1]، سامان شیدائی[1]، فرشید حسنی[1]

۱- * **نویسنده مسوول**: موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران (n_khaledi@areeo.ac.ir)

۲- موسسه تحقیقات پنبه کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۱/۱۷ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۳/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۴/۱۵

چکیده

بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی (*Verticillium dahliae* Kleb.) یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید پنبه در جهان است که علاوه بر کاهش عملکرد، کیفیت الیاف محصول را نیز به‌طور چشمگیری تحت تأثیر قرار می‌دهد. این پژوهش با هدف تعیین سطح مقاومت ارقام مختلف پنبه، بررسی تأثیر بیماری روی صفات زراعی و ارزیابی شاخص‌های بیوشیمیایی مرتبط با مقاومت پایه انجام شد. آزمایش‌ها در دو شرایط مزرعه‌ای (آلودگی طبیعی) و گلخانه‌ای (مایه‌زنی مصنوعی) اجرا شدند. در این پژوهش، واکنش هفت رقم وارداتی پنبه شامل Erguven، Efe09، GW22-1361، GW22-1513، PM39، May509 و Ashor به همراه دو رقم داخلی Varamin (حساس) و Golestan (مقاومت متوسط) در برابر بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی مورد ارزیابی قرار گرفتند. شاخص شدت بیماری، درصد بروز بیماری، صفات زراعی، عملکرد و شاخص‌های بیوشیمیایی شامل فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و دفاعی، محتوای پروتئین، تجمع ترکیبات فنلی و رسوب لیگنین اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که ارقام مورد بررسی، واکنش‌های متفاوت و معناداری نسبت به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی از خود نشان دادند. در میان ارقام ارزیابی شده، رقم GW22-1513 کمترین شدت بیماری، بالاترین عملکرد زراعی و بیشترین فعالیت آنزیم‌های دفاعی و تجمع ترکیبات فنلی و لیگنین را به خود اختصاص داد. به‌طور کلی، پاسخ سریع‌تر و کارآمدتر سازوکارهای دفاعی در ارقام نسبتاً مقاوم GW22-1513، GW22-1361 و Ashor، نقش اساسی در کاهش شدت بیماری و حفظ صفات رشدی و عملکرد گیاه ایفا کرد. یافته‌های این پژوهش دیدگاه‌های جدیدی را درباره واکنش‌های متفاوت ارقام وارداتی پنبه به بیماری و تأثیر آن بر عملکرد زراعی ارائه می‌دهد که می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی و مدیریت بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی مورد استفاده قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: سوپراکسید دیسموتاز، پلی‌فنول اکسیداز، فنیل‌آلانین آمونیالیاز، گایاکول پراکسیداز، مقاومت پایه

دبیر تخصصی: دکتر سعید عباسی

مقدمه

پنبه (*Gossypium hirsutum* L.) گیاهی دولپه‌ای و متعلق به تیره پنیرک (Malvaceae) است که به‌عنوان یکی از راهبردی‌ترین محصولات زراعی و صنعتی در مقیاس جهانی شناخته می‌شود. این گیاه به دلیل نقش اساسی در تأمین الیاف مورد نیاز صنایع نساجی و همچنین تولید روغن‌های گیاهی، از اهمیت اقتصادی بالایی برخوردار است. بر اساس برآوردهای موجود، در سال زراعی ۲۰۲۵-۲۰۲۴، سطح زیر کشت پنبه در جهان حدود ۳۰/۹ میلیون هکتار و میزان تولید آن نزدیک به ۲۶ میلیون تن گزارش شده است (FAOSTAT, 2026). در ایران نیز سطح زیر کشت این محصول در حدود ۸۸ هزار هکتار و تولید سالانه آن بالغ بر ۲۴۹ هزار تن برآورد شده است (Anonymous, 2025). پتانسیل رشد و بهره‌وری پنبه تحت تأثیر مجموعه‌ای از عوامل زیستی و غیرزیستی قرار دارد (Kamburova et al., 2022). بیماری پژمردگی آوندی، ناشی از قارچ همی‌بیوتروف خاکزی *Verticillium dahliae* Kleb.، یکی از مخرّب‌ترین و محدودکننده‌ترین بیماری‌های پنبه در سطح جهان به شمار می‌رود. گزارش‌ها نشان می‌دهند که میانگین خسارت سالیانه ناشی از این بیماری بین ۱۰ تا ۳۵ درصد متغیّر است (Song et al., 2020; Zhu et al., 2021). انتقال بیمارگر از طریق خاک و بذر آلوده امکان‌پذیر است (Göre et al., 2011) و قارچ قادر است به‌صورت ریزسختینه در بافت‌های گیاهی آلوده یا خاک برای مدت طولانی باقی بماند. ریزسختینه‌ها پس از جوانه‌زنی به ریشه میزبان، به‌ویژه نواحی آسیب‌دیده و بافت‌های جوان نفوذ کرده و به‌تدریج در آوندهای چوبی استقرار می‌یابند. استقرار قارچ در این بافت، همراه با ترشح طیف گسترده‌ای از فاکتورهای بیماریزا از جمله پلی‌ساکاریدها و آنزیم‌ها، موجب اختلال در پاسخ‌های دفاعی گیاه می‌شود؛ این تعامل با القای تشکیل تیلوز، رسوب صمغ و تجمع پلی‌ساکاریدها در آوندها، موجب انسداد جریان آوندی شده و انتقال شیره خام از ریشه به اندام‌های هوایی را به‌طور مؤثری مختل می‌کند (Zhang et al., 2022). پیامد این فرآیند، تغییرات فیزیولوژیکی و ریخت‌شناختی گیاه است که با علایمی همچون زردی برگ‌ها، پژمردگی موضعی یا عمومی، ریزش برگ‌ها یا غوزه‌ها، قهوه‌ای شدن آوندها، نکروز بافت و در نهایت مرگ زودرس گیاه همراه است (Song et al., 2020; Li et al., 2024). جدایه‌های قارچ بیمارگر، با وجود تشابه ظاهری، از نظر علایم و شدت بیماریزایی در دو گروه متمایز با عنوان پاتوتیپ‌های برگ‌ریز[۱] و غیر برگ‌ریز[۲] دسته‌بندی می‌شوند (Jafary et al., 2014). علایم بیماری ایجاد شده توسط جدایه‌های پاتوتیپ برگ‌ریز شدیدتر از غیر برگ‌ریز است و ممکن است منجر به مرگ گیاهان آلوده شود (Mercado-Blanco et al., 2002).

کنترل پژمردگی ورتیسیلیومی پنبه به دلیل خاکزی بودن بیمارگر، گستردگی دامنه میزبانی و تولید ریزسختینه‌های مقاوم، چالشی پیچیده و پرهزینه است. راهبردهای مدیریت این بیماری شامل به‌کارگیری ارقام متحمل، تنظیم تاریخ و تراکم کاشت، بهینه‌سازی آبیاری و تغذیه، کنترل علف‌های هرز و رعایت اصول تناوب زراعی است. در میان این روش‌ها، کشت ارقام متحمل با ویژگی‌های زراعی مطلوب به عنوان مؤثرترین و اقتصادی‌ترین شیوه کنترل شناخته می‌شود (Nurimanguli et al., 2022). با این حال، ارقام پنبه کشت‌شده در کشور تا به امروز هیچ‌گونه مقاومت کامل و پایدار در برابر پژمردگی ورتیسیلیومی را نشان نداده‌اند (Bayat Tork et al., 2021). در نتیجه، هنگامی که زادمایه فعال قارچ موجود باشد و ارقام حساس کشت شوند، به‌ویژه در شرایط اقلیمی که امکان گسترش بیماری را فراهم می‌کند، مدیریت آن به طور چشمگیری پیچیده شده و این مسئله به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین چالش‌های زنجیره تولید پنبه مطرح می‌شود (Zhang et al., 2012).

در ایران، پژوهش‌های متعددی با هدف شناسایی منابع مقاومت و ارزیابی واکنش ارقام مختلف پنبه از جمله Varamin، Sahel، Armaghan، Bakhtegan، Tashkan، Golestan،Sepideh،

[۱] Defoliating

[۲] Non- defoliating

Khorshid، Mehr، Khordad و Kashmar به این بیماری انجام شده است (Arabsalmani et al., 2011; Zahedi et al., 2016; Bayat Tork et al., 2021). نتایج این مطالعات بیانگر آن است که ارقام بومی و اصلاح‌شده در کشور طی دهه‌های گذشته، تنوع واکنش قابل توجهی را از خود نشان داده‌اند. اگرچه رقم Sahel از مقاومت مطلوبی برخوردار است، اما به دلیل عملکرد پایین، از چرخه کشت گسترده خارج شده و اکنون به میزان محدودی کشت می‌شود. در مقابل، ارقام Bakhtegan، Tashkan و Golestan مقاومت نسبی مطلوبی از خود نشان دادند. با این وجود، علی‌رغم پیشرفت‌های چشمگیری که این ارقام در عملکرد و کیفیت الیاف داشته‌اند (Hamidi et al., 2024)، اکثر آن‌ها همچنان در برابر جدایه‌های مختلف قارچ بیمارگر حساسیت متوسط تا بالایی از خود نشان می‌دهند؛ به‌ویژه در مناطقی که پتانسیل بروز بیماری وجود دارد، گزارش‌هایی مبنی بر کاهش عملکرد این ارقام ارائه شده است. این وضعیت نشان می‌دهد که علی‌رغم تلاش در به‌نژادی پنبه، هنوز رقم پنبه‌ای با مقاومت کامل و پایدار در شرایط اقلیمی مختلف ایران معرفی نشده است و این مسئله مدیریت بیماری را به چالشی پیچیده تبدیل کرده است.

افزایش مداوم جمعیت جهان همراه با محدودیت‌های دسترسی به منابع طبیعی، موجب کاهش سطح زیر کشت اراضی کشاورزی شده است. در این راستا، توجه به ارتقای عملکرد در واحد سطح و بهره‌برداری بهینه از پتانسیل واقعی ژنوتیپ‌های گیاهی، به‌منظور تضمین امنیت غذایی پایدار، اهمیت ویژه‌ای دارد. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که ارقام مختلف پنبه پاسخ‌های متفاوتی به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی از خود نشان می‌دهند (Bolek et al., 2005; Nurimanguli et al., 2022)، به‌طوری که برخی ارقام سطح تحمل قابل توجهی در برابر این بیماری دارند (Aydoğdu et al., 2025). این تنوع پاسخ‌ها نه تنها شدت بروز بیماری، بلکه صفات زراعی مهمی مانند عملکرد و کیفیت الیاف را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد (Ayele et al., 2020). شواهد حاصل از مطالعات مولکولی و فیزیولوژیکی نشان می‌دهد که تفاوت در واکنش‌های ارقام پنبه عمدتاً ناشی از اختلاف در فعال‌سازی مسیرها و سازوکارهای دفاعی گیاه است (Xu et al., 2024). بر این اساس، ارزیابی دقیق صفات زراعی ارقام می‌تواند به‌عنوان شاخصی کارآمد برای تعیین حساسیت نسبی و شناسایی منابع ژنتیکی مقاوم در برنامه‌های به‌نژادی و مدیریت بیماری پنبه به‌کار گرفته شود (Wang et al., 2025). به دلیل فقدان برنامه اصلاحی منسجم، تولید و دسترسی به ارقام مقاوم با اطمینان زیستی بالا محدود بوده و تاکنون هیچ رقم زودرسی با مقاومت پایدار در شرایط اقلیمی مختلف معرفی نشده است. از این رو، استفاده از ارقام زودرس تجاری وارداتی با مقاومت نسبی قابل قبول می‌تواند به‌طور قابل توجهی شدت بیماری را کاهش دهد.

پاسخ‌های دفاعی گیاهان در مواجهه با عوامل بیماری‌زا عمدتاً از طریق فعال‌سازی مسیرهای بیوشیمیایی و تولید آنزیم‌های دفاعی و متابولیت‌های ثانویه صورت می‌گیرد (Fradin & Thomma, 2006). در پنبه، مقاومت به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی یک فرایند چندسطحی است که ترکیبی از سازوکارهای فیزیکی، بیوشیمیایی و مولکولی را در بر می‌گیرد (Xu et al., 2011). در سطح فیزیکی، ضخیم شدن دیواره سلولی و افزایش لیگنین در بافت‌های آوندی نقش مهمی در جلوگیری از گسترش قارچ دارد. در سطح بیوشیمیایی، تجمع ترکیبات فنلی و القای سنتز پروتئین‌های دفاعی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز نقش مهمی در مهار آسیب اکسیداتیو و محدود کردن رشد قارچ ایفا می‌کند (Fradin & Thomma, 2006). علاوه بر این، فعال‌سازی مسیرهای دفاعی وابسته به پلی‌فنول‌اکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز و القای سیگنالینگ هورمون‌های دفاعی، از جمله اسید سالیسیلیک و جاسمونیک اسید، نقش مهمی در هماهنگی پاسخ‌های سلولی و مولکولی دارند و توانایی گیاه پنبه را برای مقابله با بیماری افزایش می‌دهد (Yang et al., 2025). مسیر فنیل‌پروپانوئید در پنبه، نقشی محوری در مقاومت به *V. dahliae* ایفا می‌کند، به‌طوری که تولید لیگنین و ترکیبات فنلی نه‌تنها دیواره‌های سلولی را تقویت می‌کند، بلکه به‌طور مؤثر پیشرفت قارچ عامل پژمردگی ورتیسیلیومی را مهار می‌سازد (Shaban et al., 2018).

به‌طور همزمان، تجمع ترکیبات فنلی در بافت‌های آلوده شاخصی روشن از فعال‌سازی مؤثر سازوکارهای دفاعی میزبان محسوب می‌شود (Xu et al., 2011)، افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز، با تقویت دیواره‌های سلولی و کاهش پیامدهای استرس اکسیداتیو، توان دفاعی پنبه را به‌طور چشمگیری ارتقاء می‌دهد (Zhang et al., 2024a).

با توجه به اهمیت اقتصادی پنبه و خسارت قابل توجه بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی، اطلاعات دقیق و جامع در خصوص حساسیت ارقام مختلف به بیماری وجود ندارد یا بسیار محدود است. بنابراین، هدف از این پژوهش (الف) ارزیابی حساسیت ارقام مختلف پنبه، (ب) بررسی تأثیر بیماری روی صفات زراعی کلیدی و (ج) اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی (فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و دفاعی، میزان پروتئین، رسوب لیگنین و تجمع ترکیبات فنلی) به‌منظور تعیین سطح پاسخ‌های مقاومتی ارقام می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در مرحله نخست این پژوهش، واکنش ارقام در شرایط مزرعه‌ای و تحت آلودگی طبیعی بیماری ارزیابی گردید و هم‌زمان نمونه‌برداری از خاک و بافت گیاهی، جداسازی و شناسایی عامل بیماری‌زا صورت پذیرفت. در مرحله دوم، پس از انتخاب جدایه دارای بیشترین شاخص شدت بیماری، واکنش ارقام در شرایط کنترل‌شده گلخانه‌ای و تحت مایه‌زنی مصنوعی بررسی شد. در ادامه، شاخص‌ها و پاسخ‌های بیوشیمیایی و دفاعی مرتبط با مقاومت اندازه‌گیری و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. این پژوهش در دو شرایط مجزا انجام شد؛ (الف) بخش تحقیقات مزرعه‌ای، در اراضی ایستگاه تحقیقاتی کارکنده، گرگان، گلستان برای ارزیابی عملکرد و پاسخ ارقام پنبه تحت شرایط آلودگی طبیعی و (ب) بخش تحقیقات گلخانه‌ای، در گلخانه تحقیقاتی موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال تحت شرایط محیطی کنترل شده، صورت پذیرفت.

ارزیابی مقاومت ارقام مختلف پنبه نسبت به بیماری پژمردگی ورتیسلیومی در شرایط مزرعه

ارقام گیاهی

تعداد هفت رقم وارداتی پنبه شامل Erguven، Efe09، GW22-1361، GW22-1513، PM39، May509 و Ashor مورد ارزیابی قرار گرفت، در ضمن، ارقام داخلی Varamin و Golestan به ترتیب به عنوان ارقام حساس و دارای مقاومت متوسط برای مقایسه پاسخ‌ها در کنار سایر ارقام کشت شدند.

مکان اجرای آزمون و طرح آزمایشی

آزمون ارزیابی مقاومت در ایستگاه تحقیقاتی کارکنده، واقع در فاصله ۳۵ کیلومتری غرب گرگان، با طول جغرافیایی ′۳۶ °۵۴ شرقی، عرض جغرافیایی ′۷۷ °۳۶ شمالی و ارتفاع متوسط ۱۱ متر از سطح دریا انجام شد. به دلیل آلودگی طبیعی خاک به عوامل بیماریزای پنبه، به ویژه عامل پژمردگی ورتیسیلیومی و فراهم بودن شرایط اقلیمی مناسب که موجب تشدید فعالیت و انتشار این عوامل می‌شود، این ایستگاه به عنوان مرکز غربالگری بیماری‌های پنبه شناخته می‌گردد (Arabsalmani et al., 2011; Hamidi et al., 2024). بافت خاک سیلتی لوم شامل ۱۴ تا ۲۰ درصد رس، ۶۵ تا ۸۵ درصد سیلت و ۱۰ تا ۱۵ درصد شن و اسیدیته خاک بین ۵/۷ تا ۸ بود. میانگین دمای ماهانه طی دوره آزمایش بین ۱۳ تا ۲۷ درجه سلسیوس و میزان بارندگی ماهانه بین ۲۰ تا ۴۵ میلی‌متر متغیر بود که شرایط اقلیمی مناسب و قابل اعتماد برای پیشرفت بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی را فراهم ساخت.

این آزمون در قالب طرح آزمایشی بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. عملیات خاک‌ورزی شامل شخم عمیق در پاییز و شخم متوسط همراه با دیسک‌زنی در بهار بود و برنامه کوددهی مطابق نتایج آزمون خاک طراحی و اجرا گردید. کشت بذرها در نیمه دوم اردیبهشت‌ماه صورت گرفت و هر کرت آزمایشی شامل شش ردیف کاشت به طول شش متر با فاصله ۸۰ سانتی‌متر بین ردیف‌ها بود. بذرها به‌صورت دستی، روی پشته‌های مجزا و با فاصله ۲۰ سانتی‌متر در ردیف و با رعایت عمق یکنواخت کاشته شدند.

ارزیابی شدت بیماری و صفات زراعی ارقام پنبه در مزرعه

ارزیابی بیماری چهار ماه پس از کاشت انجام شد. برای این منظور، با حذف ردیف‌های حاشیه‌ای، یک قطعه ۱/۵ × ۱/۵ مترمربع به‌صورت تصادفی در هر کرت انتخاب شد و هر بوته موجود در این قطعه بر اساس درصد بروز علایم روی برگ‌ها و میزان خشکیدگی بافت برگ در پنج سطح (صفر = بوته سالم، ۱ = تا ۳۳ درصد خشکیدگی، ۲ = ۳۴ تا ۶۶ درصد، ۳ = ۶۷ تا ۱۰۰ درصد و ۴ = بوته کاملاً لخت، بدون برگ و قوزه) ارزیابی و گروه‌بندی گردید (Chen et al., 2008). سپس درصد شاخص شدت بیماری[۱] و درصد بروز بیماری[۲] با استفاده از روابط زیر محاسبه شد:

$$DSI = \frac{0n_0 + 1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4}{4\mathrm{N}} \times 100$$

$$\mathrm{DI} = \frac{NDP}{\mathrm{NTP}} \times 100$$

که در آن، N تعداد کل بوته‌ها، n_0 تا n_4 تعداد بوته‌ها در هر درجه آلودگی، NDP تعداد بوته‌های آلوده و NTP تعداد کل بوته‌های ارزیابی‌شده است. همچنین، اثرات بیماری روی صفات زراعی ارقام مختلف طی مراحل مختلف رشد گیاه اندازه‌گیری و ثبت گردید. این صفات شامل درصد سبز شدن در مزرعه، ارتفاع بوته، تعداد و طول شاخه‌های رویا و زایا، زودرسی، تعداد قوزه در بوته، وزن متوسط سی قوزه و عملکرد در چین اول، دوم و کل مزرعه بود (Rehman et al., 2020).

برای گروه‌بندی ارقام از نظر واکنش به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی، از معیار استاندارد مبتنی بر تلفیق و مقایسه شاخص شدت بیماری در مزرعه و گلخانه استفاده شد (Zhao et al., 2017). ارقام با شاخص کمتر از ۱۰ درصد در گروه نسبتاً مقاوم، ارقام با شاخص ۱۱ تا ۲۹ درصد در گروه دارای مقاومت متوسط و ارقام با شاخص بیش از ۳۰ درصد در گروه حساس قرار گرفتند. این گروه‌بندی بر اساس توزیع داده‌های این تحقیق و مطابق با استانداردهای رایج در مطالعات ارزیابی مقاومت ارقام پنبه به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی تعیین گردید (Chen et al., 2008; Zhang et al., 2020; Çelik et al., 2023).

جداسازی و ارزیابی جمعیت قارچ عامل پژمردگی ورتیسیلیومی در خاک مزرعه آزمایشی و ساقه گیاه

جمعیت قارچ عامل پژمردگی ورتیسیلیومی در خاک مزرعه پیش از کاشت و طی فصل رشد ارزیابی شد. در هر مرحله، ۳۶ نمونه مرکب (متشکل از ۳ زیرنمونه) از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متر خاک استخراج گردید. نمونه‌ها پس از خشک‌شدن و الک‌کردن، برای تهیه سوسپانسیون با آب مقطر سترون مخلوط و با توئین ۸۰ یکنواخت شدند. پس از عبور سوسپانسیون از صافی‌های ۱۲۵ و ۳۷ میکرون، رسوبات جمع‌آوری‌شده روی صافی ۳۷ میکرون با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد ضدعفونی و در آب مقطر سترون به حجم ۱۰ میلی‌لیتر معلق شدند. سپس یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون روی سطح پتری‌دیش حاوی محیط نیمه انتخابی الکل آگار شامل آگار ۱۵ گرم، ساکارز ۷/۵ گرم، نیترات سدیم ۲ گرم، فسفات دی پتاسیم ۰/۵ گرم، اتانول ۹۶ درصد ۵ میلی لیتر، آنتی بیوتیک‌های کلرامفنیکول و سولفات استرپتومایسین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و پنتاکلرونیتروبنزن ۰/۰۵ گرم) کشت داده شد. پتری‌دیش‌ها در دمای ۱±۲۰ درجه سلسیوس و در تاریکی نگهداری شدند و پس از ۱۴ روز، پرگنه‌های قارچ شمارش و جمعیت قارچ بر اساس تعداد پرگنه در هر گرم خاک خشک محاسبه گردید (Arabsalmani *et al.*, 2014; Amini, 2015; Shabani and Jamali, 2017). به منظور جداسازی بیمارگر در پایان دوره رشد رویشی، از هر کرت به‌صورت تصادفی ۵ بوته انتخاب گردید و ساقه‌های آن‌ها در ارتفاع بیش از ۷ سانتی‌متر از سطح خاک به صورت عرضی بریده شدند. از ساقه‌ها قطعاتی به طول ۳ تا ۴ سانتی‌متری بریده و پس از ضدعفونی، در محیط زاپک داکس آگار[۳] حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آنتی‌بیوتیک سولفات استرپتومایسین کشت شده و به مدت ۱۴ روز در شرایط تاریکی و دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند تا رشد قارچ و امکان ارزیابی فراهم شود (Back et al., 2002).

---

[۱] Disease severity index, DSI

[۲] Disease incidence, DI

[۳] Czapek-Dox Agar, Ibresco, Iran

خالص‌سازی و شناسایی ریخت‌شناختی و مولکولی قارچ عامل پژمردگی ورتیسیلیومی

برای تهیه کشت خالص، جدایه‌های قارچ از طریق روش تک اسپور و همچنین با استفاده از نوک ریسه روی محیط زاپک داکس آگار کشت داده شدند (Bhat and Subbarao, 1999; Farzin & Mousavi Jorf, 2013). شناسایی ریخت‌شناختی قارچ بر اساس ویژگی‌های ماکروسکوپی و میکروسکوپی ذکر شده در منابع معتبر (Goud et al., 2003; Inderbitzin et al., 2011) و کلید شناسایی استاندارد (Hilloks, 1992; Barnett and Hunter, 1998) انجام شد. برای شناسایی مولکولی، چند جدایه‌های منتخب در ارلن‌مایر حاوی محیط کشت مایع عصاره سیب‌زمینی دکستروز[۱] به مدت ۱۰ روز در انکوباتور شیکردار با دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس و سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه رشد داده شدند تا میسلیوم کافی تولید شود. میسلیوم جمع‌آوری و پس از شستشو با آب مقطر سترون، برای استخراج DNA ژنومی با کیت تجاری Genomic DNA isolation kit[۲] مطابق دستورالعمل شرکت سازنده آماده شد. کیفیّت و کمیّت DNA استخراج‌شده با الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد و طیف‌سنجی با دستگاه نانودراپ اسپکتروفتومتری[۳] ارزیابی شد (Khanmohammadi et al., 2015). شناسایی گونه‌ای قارچ با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و آغازگرهای اختصاصی (Forward: 5’-CGG TGA CAT AAT ACT GAG AG-3’ و Reverse: 5’-GAC GAT GCG GAT TGA ACG AA-3’) انجام شد که باندی با اندازه ۵۳۰ جفت‌باز تولید می‌کنند (Dong et al., 2023). این واکنش شامل واسرشت سازی اولیه به مدت ۳ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، ۳۵ چرخه شامل واسرشت‌سازی به مدت ۶۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس، اتصال آغازگرها به مدت ۶۰ ثانیه در دمای ۵۴ درجه سلسیوس و گسترش به مدت ۵۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس و مرحله گسترش نهایی به مدت ۶ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس بود (Akar et al., 2024). حجم نهایی واکنش ۲۵ میکرولیتر شامل ۳ میکرولیتر DNA الگو، یک میکرولیتر از هر آغازگر، ۱۲/۵ میکرولیتر 2X PCR Master Mix[۴] و ۷/۵ میکرولیتر آب دیونیزه (عاری از نوکلئاز) بود. هر آزمایش شامل شاهد منفی (بدون DNA) و شاهد مثبت) (DNA یک جدایه استاندارد و شناخته شده از قارچ *V. dahliae*) بود. محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد در ولتاژ ۷۰ ولت به مدت ۴۵ دقیقه تفکیک و پس از رنگ‌آمیزی با رنگ فلورسنت GelRed® مشاهده و عکس‌برداری شدند. اندازه باندها با استفاده از مارکر وزن مولکولی[۵] تعیین گردید.

ارزیابی بیماری‌زایی جدایه‌های قارچی و انتخاب جدایه برتر

به‌منظور انتخاب بیماری‌زاترین جدایه *Verticillium dahliae* برای استفاده در آزمایش‌های گلخانه‌ای و بررسی پاسخ‌های بیوشیمیایی ارقام پنبه، بیماری‌زایی در مجموع ۴۸ جدایه‌ی جداسازی‌شده از خاک مزرعه (شامل ۲۰ و ۲۸ جدایه به‌ترتیب از نمونه‌برداری‌های اولیه و ثانویه) روی رقم حساس Varamin ارزیابی شد. برای ضدعفونی سطحی، بذرهای رقم حساس Varamin به مدت ۲ تا ۳ دقیقه در محلول ۵ درصد هیپوکلریت سدیم قرار گرفته و پس از سه بار شستشو با آب مقطر سترون، روی کاغذ صافی مرطوب در اتاقک رشد با دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس تا جوانه‌زنی نگهداری شدند. پس از جوانه‌زنی، گیاهچه‌ها به گلدان‌های پلاستیکی ۳ لیتری حاوی بستر سترون (خاک رس، ماسه و کود دامی با نسبت حجمی ۱:۱:۱) منتقل و در شرایط گلخانه‌ای کنترل‌شده، با دمای ۲۷ درجه سلسیوس طی دوره ۱۶ ساعت روشنایی و ۲۳ درجه سلسیوس طی دوره ۸ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۶۰ درصد نگهداری شدند (Bayat et al., 2021; Farrokhzadeh et al., 2025). به

---

[۱] Potato Dextrose Broth, Ibresco, Iran

[۲] Pishgam Biotech, Iran

[۳] NanoDrop 2000; Spectophotometer, Thermo Scientific, Wilmington, USA

[۴] Pishgam, Iran

[۵] 100bp DNA Ladder

منظور حذف کامل میکروارگانیسم‌ها، خاک مورد استفاده طی دو روز متوالی به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱۰۰ کیلوپاسکال در دستگاه اتوکلاو سترون شد. زادمایه قارچی مطابق روش Singleton و همکاران (۱۹۹۲) تهیه و غلظت سوسپانسیون در $۱۰^{۶}$ ×۱ کنیدی در میلی‌لیتر آب مقطر سترون حاوی ۰/۰۵ درصد توئین ۸۰ تنظیم شد. مایه‌زنی در مرحله ۶ تا ۸ برگی و ۲۰ روز پس از کشت، با تزریق ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون به محل اتصال برگ و ساقه به وسیله سرنگ گیج ۲۳ انجام شد (Dhingra and Sinclair, 1986). تیمار شاهد تنها با آب مقطر سترون مایه‌زنی شد (Arabsalmani, 2014). پس از مایه‌زنی، گیاهان به مدت ۴۸ ساعت در محفظه‌ای با رطوبت نسبی ۸۰ تا ۸۵ درصد نگهداری شده و سپس به شرایط گلخانه منتقل شدند.

شدت بیماری بر اساس مقیاس پنج سطحی شرح داده شده توسط Chen et al. (2008) ارزیابی و شاخص شدت بیماری محاسبه شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار (هر تکرار شامل چهار گیاهچه) برای هر جدایه انجام شد. در پایان این آزمایش گیاهان از بستر کشت خارج و پس از بررسی علایم بیماری، عامل بیماری‌زا از بافت‌های آلوده مجدداً جداسازی شد تا اصول کخ تأیید شود. در نهایت، جدایه دارای بیشترین شاخص شدت بیماری به‌عنوان بیماری‌زاترین جدایه انتخاب و در آزمایش‌های بعدی برای ارزیابی واکنش ارقام و بررسی پاسخ‌های بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفت.

ارزیابی واکنش و پاسخ ارقام پنبه به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی در شرایط گلخانه

برای ارزیابی واکنش ارقام مختلف پنبه به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی، بذرهای ارقام مورد مطالعه پس از حذف کرک‌های سطحی با اسید سولفوریک ۹۸ درصد به مدت ۲۰ تا ۳۰ ثانیه (Shabani & Jamali, 2017)، مطابق روش شرح داده‌شده در بخش قبل، جوانه‌دار و در شرایط گلخانه‌ای کشت شدند. مایه‌زنی گیاهچه‌ها در مرحله ۶ تا ۸ برگی با استفاده از بیماری‌زاترین جدایه منتخب *V. dahliae* و مطابق روش شرح داده‌شده در بخش قبل انجام شد. گیاهان شاهد تنها با آب مقطر سترون مایه‌زنی شدند (Arabsalmani, 2014). سپس، درصد شاخص شدت بیماری و درصد بروز بیماری، ۴۰ روز پس از مایه‌زنی محاسبه گردید. همچنین، علاوه بر این، صفات زراعی شامل طول گیاهچه، تعداد برگ‌های سالم و شاخه‌های رویا، وزن خشک اندام هوایی و ریشه اندازه‌گیری شدند (Bayat Tork et al., 2021).

نمونه‌برداری برای سنجش شاخص‌های بیوشیمیایی

نمونه‌برداری برای ارزیابی پاسخ‌های بیوشیمیایی در روزهای یکم، سوم، ششم، نهم، دوازدهم و پانزدهم پس از مایه‌زنی انجام شد (Zhang et al., 2024b) و نمونه‌ها در دمای ۲۰- درجه سلسیوس منجمد و برای آزمایش‌های بعدی نگهداری شدند. شاخص‌های فیزیولوژیکی نیز شامل محتوای کل ترکیبات فنلی، میزان رسوب لیگنین و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز، پلی‌فنول‌اکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز مورد ارزیابی قرار گرفت.

تهیه عصاره آنزیمی و سنجش محتوای پروتئین کل

استخراج عصاره آنزیمی بر اساس روش گزارش‌شده توسط Safdar و همکاران (۲۰۲۴) انجام گرفت. بدین منظور، ۱۵۰ میلی‌گرم از بافت تازه گیاهی هر نمونه در حضور نیتروژن مایع با استفاده از هاون کاملاً همگن شد و سپس ۳ میلی‌لیتر بافر سدیم‌فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH 6.8) به آن افزوده گردید. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس و با سرعت g× ۱۵۰۰۰ سانتریفیوژ شدند و مایع رویی حاصل به‌عنوان عصاره خام آنزیمی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها مورد استفاده قرار گرفت. محتوای کل پروتئین عصاره‌ها به روش برادفورد (Bradford, 1976) در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری و نتایج به‌صورت میلی‌گرم پروتئین در هر گرم بافت تازه[۱] بیان شد.

ارزیابی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

[۱] mg g-1 Fresh weight (FW)

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مطابق روش Safdar et al. (2024) و بر اساس توانایی آنزیم در مهار احیای نیتروبلو تترازولیوم توسط رادیکال‌های سوپراکسید تعیین گردید. یک واحد فعالیت آنزیمی به‌عنوان مقدار آنزیمی تعریف شد که موجب ۵۰ درصد مهار در واکنش احیای نیتروبلو تترازولیوم شود. نتایج به‌صورت واحد فعالیت در هر میلی‌گرم پروتئین[۱] گزارش شد.

ارزیابی فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از روش اکسیداسیون گایاکول طبق روش Xu et al. (2011) اندازه‌گیری شد. سنجش فعالیت بر اساس افزایش جذب نوری ناشی از اکسیداسیون گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر انجام گرفت و یک واحد فعالیت آنزیم به‌صورت تغییر ۰/۰۱ واحد جذب در دقیقه تعریف شد. نتایج به‌صورت نانوکاتال در هر میلی‌گرم پروتئین[۲] بیان گردید.

ارزیابی فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز

فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز بر اساس روش Li et al. (2019) و از طریق پایش افزایش جذب نوری ناشی از اکسیداسیون کاتکول در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و نتایج به‌صورت واحد فعالیت در هر میلی‌گرم پروتئین[۳] گزارش گردید.

ارزیابی فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز

فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز، به‌عنوان آنزیم کلیدی در مسیر بیوسنتز ترکیبات فنلی، مطابق روش Duberyو Smit (۱۹۹۴) تعیین شد. سنجش فعالیت آنزیم بر اساس اندازه‌گیری مقدار اسید ترانس‌سینامیک تولید شده و ثبت جذب نوری آن در طول موج ۲۹۰ نانومتر انجام گرفت و نتایج به‌صورت نانومول اسید ترانس‌سینامیک تولید شده در دقیقه به ازای میلی‌گرم پروتئین[۴] بیان شد.

سنجش محتوای فنل کل و تغییرات رسوب لیگنین

محتوای کل ترکیبات فنلی برگ‌ها با استفاده از واکنش فولین–شیکالتو[۵] و بر اساس روش Ainsworth و Gillespie (۲۰۰۷) اندازه‌گیری گردید. غلظت ترکیبات فنلی با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید محاسبه و نتایج به‌صورت میکروگرم معادل گالیک اسید در هر گرم بافت تازه[۶] گزارش شد. برای تعیین محتوای کل لیگنین در نمونه‌های پنبه، از روش کلایسون[۷] بر اساس روش توصیف‌شده توسط Hatfield و Fukushima (۲۰۰۵) استفاده شد. در این روش، نمونه‌ها تحت هیدرولیز شدید با اسید سولفوریک غلیظ (۷۲ درصد) قرار گرفتند که طی آن پلی‌ساکاریدهای دیواره سلولی شامل سلولز و همی‌سلولز تجزیه شده و لیگنین نامحلول در اسید به‌صورت رسوب جامد باقی ماند. رسوب لیگنین پس از صاف‌سازی، شستشو با آب دیونیزه، خشک‌کردن و توزین، به‌عنوان شاخص محتوای لیگنین ثبت گردید و مقدار آن به‌صورت درصد وزن بافت خشک[۸] محاسبه شد.

واکاوی‌های آماری

واکاوی آماری داده‌های حاصل از آزمون بیماریزایی پس از نرمال سازی داده‌ها با استفاده از تبدیل ریشه دوم $\sqrt{X+0.5}$، در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با بهره‌گیری از نرم‌افزار SAS (version 9.4) انجام گرفت و مقایسه میانگین‌ها با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد ($P \leq 0.05$) مورد ارزیابی قرار گرفت. ترسیم نمودارها و نمایش گرافیکی نتایج با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Office Excel 2013 انجام شد.

نتایج

تأثیر آلودگی *Verticillium dahliae* روی صفات زراعی در مزرعه

---

[۱] U SOD mg^{-1} protein
[۲] nKat mg^{-1} protein
[۳] U PPO mg^{-1} protein
[۴] nmol min^{-1} mg^{-1} protein
[۵] Folin–Ciocalteu
[۶] µg GAE g^{-1} Fresh weight (FW)
[۷] Klason
[۸] Dry weight (DW)

ارقام پنبه به منظور بررسی صفات زراعی مختلف شامل درصد سبز شدن در مزرعه، ارتفاع بوته، تعداد و طول شاخه‌های رویا و زایا، زودرسی، تعداد قوزه در بوته، وزن متوسط سی قوزه و عملکرد در چین اول، دوم و کل در مزرعه تحقیقاتی ایستگاه کارکنده که تحت آلودگی طبیعی به عوامل بیماری‌زای خاکزی، به ویژه عامل پژمردگی ورتیسیلیومی بود، کشت شدند. با توجه به سابقه طولانی‌مدت آلودگی غالب مزرعه تحقیقاتی ایستگاه کارکنده به *V. dahliae*، مشاهده علایم ظاهری اختصاصی بیماری در مزرعه (زردی و خشک شدن یک‌طرفه شاخه‌ها) و نتایج حاصل از ارزیابی بصری برش عرضی ساقه‌ها در پایان دوره رشد و مشاهده علایم قهوه‌ای شدن آوندها، می‌توان نتیجه گرفت که تفاوت‌های صفات زراعی عمدتاً ناشی از عامل بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی بوده و اثر سایر عوامل خاک‌زاد ناچیز و قابل چشم‌پوشی بوده است.

ارقام مورد مطالعه از نظر صفات زراعی در گروه‌های آماری مختلف تحلیل شدند و تفاوت‌های معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد تعیین شد (جدول ۱). نتایج نشان داد که درصد نهایی سبز شدن ژنوتیپ‌ها بین ۸۴/۰ تا ۸۸/۵ درصد متغیر بود و ارتفاع میانگین بوته‌ها از ۹۶/۷ تا ۱۰۹/۵ سانتی‌متر تغییر داشت، به‌طوری که رقم Varamin بیشترین ارتفاع را نشان داد (جدول ۱). میانگین طول شاخه‌های رویا بین ۳۰/۲ تا ۴۴/۵ سانتی‌متر و شاخه‌های زایا بین ۲۱/۲ تا ۳۰/۰ سانتی‌متر گزارش شد، در حالی که تعداد شاخه‌های رویا بین ۳ تا ۵ و شاخه‌های زایا بین ۱۱ تا ۱۸ عدد متغیر بود (جدول ۱). بیشترین نسبت شاخه‌های زایا به شاخه‌های رویا متعلق به رقم GW22-1513بود، پس از آن ارقام GW22-1361، Ashor، Efe09، Golestan، May509، Erguven، PM39 و Varamin قرار گرفتند. تعداد قوزه در بوته بین ۱۳ تا ۲۲ و وزن متوسط سی قوزه بین ۱۰۶/۹ تا ۱۳۳/۳ گرم تغییر داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که رقم GW22-1513به‌طور معنی‌داری از سایر ژنوتیپ‌ها برتر است. ارزیابی میزان زودرسی نیز بیانگر آن بود که GW22-1513 زودرس‌ترین رقم بوده و PM39 و Varamin دیررس‌ترین ژنوتیپ‌ها به شمار آمدند. عملکرد میانگین چین اول بین ۶۴۳/۵ تا ۸۹۲/۲ کیلوگرم در هکتار، چین دوم بین ۱۳۶/۵ تا ۱۶۳/۰ کیلوگرم در هکتار و عملکرد کل بین ۷۸۰/۲ تا ۱۰۵۴/۰ کیلوگرم در هکتار متغیر بود (جدول ۱). به‌طور کلی، رقم GW22-1513 در تمام شاخص‌های عملکردی، شامل چین اول، دوم و کل، به‌طور معنی‌داری از سایر ارقام بالاتر بود و به عنوان رقم برتر در شرایط مزرعه معرفی شد.

پویایی جمعیت قارچ *Verticillium dahliae* در خاک مزرعه

بررسی‌ها نشان داد که تراکم جمعیت قارچ عامل پژمردگی ورتیسیلیومی در خاک مزرعه تحقیقاتی ایستگاه کارکنده پیش از کاشت پنبه در دامنه ۵ تا ۷ پرگنه در هر گرم خاک خشک قرار داشت؛ در حالی‌که همزمان با استقرار و پیشرفت مراحل رشدی گیاه، این مقدار طی فصل رشد به ۶ تا ۸ پرگنه در هر گرم خاک خشک افزایش یافت. تحلیل آماری داده‌ها وجود تفاوت معنی‌دار در پویایی جمعیت قارچ بین مرحله پیش از کاشت و مراحل مختلف رشد گیاه پنبه را تأیید کرد که بیانگر فعال شدن و تقویت زادمایه بیمارگر در حضور میزبان است. تغییرات جمعیت قارچ در کرت‌های آزمایشی یکسان نیست. نتایج حاصل نشان‌دهنده آن است که ظهور علایم بیماری وابسته به تراکم زادمایه و ویژگی‌های ژنتیکی رقم است

شناسایی ریخت‌شناختی و تأیید مولکولی جدایه‌های قارچی *Verticillium dahliae*

در مجموع، طی مراحل مختلف نمونه‌برداری از خاک مزرعه تحقیقاتی ایستگاه کارکنده، ۴۸ جدایه قارچی به‌دست آمد (شکل ۱). شناسایی گونه قارچی جداسازی‌شده بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناتی پرگنه و بررسی صفات میکروسکوپی، مطابق با منابع و کلیدهای شناسایی معتبر انجام گرفت. مشخصات ریخت‌شناختی جدایه‌های *V. dahliae* جداسازی شده بـه شرح زیر است: رنگ پرگنه‌ها در مراحل اولیه سفید تا کرم‌رنگ بوده و با افزایش سن به خاکستری تیره تا سیاه تغییر رنگ می‌دهند. ریسه‌ها شفاف، دیواره‌دار و منشعب هستند. کنیدیوم‌برها راست و یا منشعب به ابعاد ۲-۱ × ۱۵-۴۳ میکرومتر، کنیدیوم‌ها بی‌رنگ، تک‌سلولی، بیضوی

تا استوانه‌ای کوتاه به ابعاد ۳/۷–۱/۵ × ۷–۳ میکرومتر بوده و به‌صورت خوشه‌ای در انتهای کنیدیوم‌برها تشکیل می‌شوند. تولید فراوان ریزسختینه‌های تیره‌رنگ، کروی تا نامنظم و به ابعاد ۷۵–۱۸ میکرومتر، از ویژگی‌های شاخص این گونه محسوب می‌شود. علاوه بر این، استفاده از آغازگرهای اختصاصی گونه در جدایه‌های منتخب منجر به تولید قطعه‌ای به اندازه ۵۳۰ جفت‌باز شد که نشان‌دهنده صحت شناسایی ریخت‌شناختی گونه *V. dahliae* در سطح مولکولی می‌باشد.

نتایج ارزیابی بصری و بررسی برش‌های عرضی ساقه‌ها نشان داد که شدت قهوه‌ای شدن بافت‌ها با توجه به سطح حساسیت هر رقم پنبه متفاوت است. علاوه بر این، نتایج حاصل از جداسازی و شناسایی قارچ بیمارگر از ساقه‌های ارقام مختلف، با تکیه بر ویژگی‌های ریخت‌شناختی و اطلاعات مولکولی حاصل از تکثیر قطعه موردنظر با آغازگرهای اختصاصی گونه، تأیید کرد که *V. dahliae* عامل اصلی بروز بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی در مزرعه بوده است.

جدول ۱- میانگین صفات زراعی ارقام پنبه در شرایط آلودگی طبیعی در مزرعه تحقیقاتی ایستگاه کارکنده

Table 1. Comparative analysis of agronomic traits of cotton cultivars under natural infection at Karkandeh research station

Cultivars	Final emergence percentage in field	Plant height (cm)	Earliness (%)	Length of monopodial branch (cm)	Length of sympodial branch (cm)	30 Boll weight (g)
Erguven	88.5 ± 0.8 a	100.2 ± 0.7 e	82.7 ± 0.0 f	36.2 ± 0.5 d	21.2 ± 0.5 e	106.9 ± 0.9 f
Efe09	87.7 ± 0.4 ab	108.7 ± 1.0 a	84.0 ± 0.0 d	32.0 ± 0.4 f	24.7 ± 0.2 d	115.8 ± 0.3 d
GW22-1361	86.1 ± 0.3 bcd	103.5 ± 0.9 bcd	84.2 ± 0.0 b	43.0 ± 0.4 bc	30.0 ± 0.9 a	112.7 ± 0.4 e
GW22-1513	86.9 ± 0.7 abc	96.7 ± 1.1 f	84.6 ± 0.0 a	30.2 ± 0.9 g	25.5 ± 0.3 cd	114.3 ± 0.9 de
PM39	85.8 ± 0.9 cd	103.0 ± 0.9 cd	82.4 ± 0.0 g	34.2 ± 0.5 e	26.7 ± 0.5 b	119.0 ± 1.6 c
May509	85.0 ± 0.3 de	101.5 ± 1.2 de	83.5 ± 0.0 e	43.5 ± 0.3 ab	25.2 ± 0.5 d	125.7 ± 0.2 b
Ashor	85.6 ± 0.7 cde	106.0 ± 1.1 b	84.1 ± 0.0 c	42.0 ± 0.4 c	30.0 ± 0.4 a	120.9 ± 0.3 c
Varamin	85.0 ± 0.4 de	109.50 ± 0.6 a	82.5 ± 0.1 g	44.5 ± 0.3 a	22.0 ± 0.4 e	113.5 ± 0.6 de
Golestan	84.0 ± 0.4 e	104.2 ± 0.5 bc	83.4 ± 0.0 e	42.7 ± 0.5 bc	27.2 ± 0.2 b	133.3 ± 1.3 a
CV	1.36	1.79	0.05	2.58	3.70	1.46

Cultivars	Number of monopodial branch	Number of sympodial branch	Number of bolls per plant	Yield of first picking (kg/ha)	Yield of second picking (kg/ha)	Total yield (kg/ha)
Erguven	3.5 ± 0.3 ab	12.0 ± 0.0 d	15.2 ± 0.2 de	651.5 ± 2.9 g	136.5 ± 0.6 f	788.0 ± 3.6 g
Efe09	3.2 ± 0.2 b	11.7 ± 0.2 d	18.0 ± 0.0 c	760.0 ± 0.4 d	144.7 ± 0.2 d	904.7 ± 0.2 d
GW22-1361	3.5 ± 0.3 ab	13.5 ± 0.3 c	17.5 ± 0.3 c	751.5 ± 1.0 e	140.7 ± 0.2 e	892.2 ± 1.2 e
GW22-1513	4.2 ± 0.2 a	17.5 ± 0.3 a	20.7 ± 0.4 a	892.2 ± 2.3 a	161.7 ± 0.2 a	1054.0 ± 2.5 a
PM39	3.2 ± 0.2 b	11.0 ± 0.4 e	13.5 ± 0.3 g	675.0 ± 1.4 f	143.7 ± 0.5 d	819.5 ± 1.8 f
May509	3.5 ± 0.3 ab	12.2 ± 0.2 d	14.5 ± 0.3 ef	796.5 ± 1.5 c	157.7 ± 0.2 b	954.2 ± 1.7 c
Ashor	4.2 ± 0.2 a	16.2 ± 0.2 b	19.5 ± 0.3 b	864.2 ± 3.2 b	163.0 ± 0.7 a	1027.2 ± 3.9 b
Varamin	3.7 ± 0.2 ab	12.0 ± 0.0 d	13.7 ± 0.2 fg	643.5 ± 0.9 h	136.7 ± 0.5 f	780.2 ± 1.2 h
Golestan	3.2 ± 0.2 b	11.7 ± 0.2 d	15.7 ± 0.2 d	760.2 ± 1.8 d	151.1 ± 0.4 c	911.2 ± 2.2 d
CV	14.59	3.88	3.49	13.01	8.60	15.52

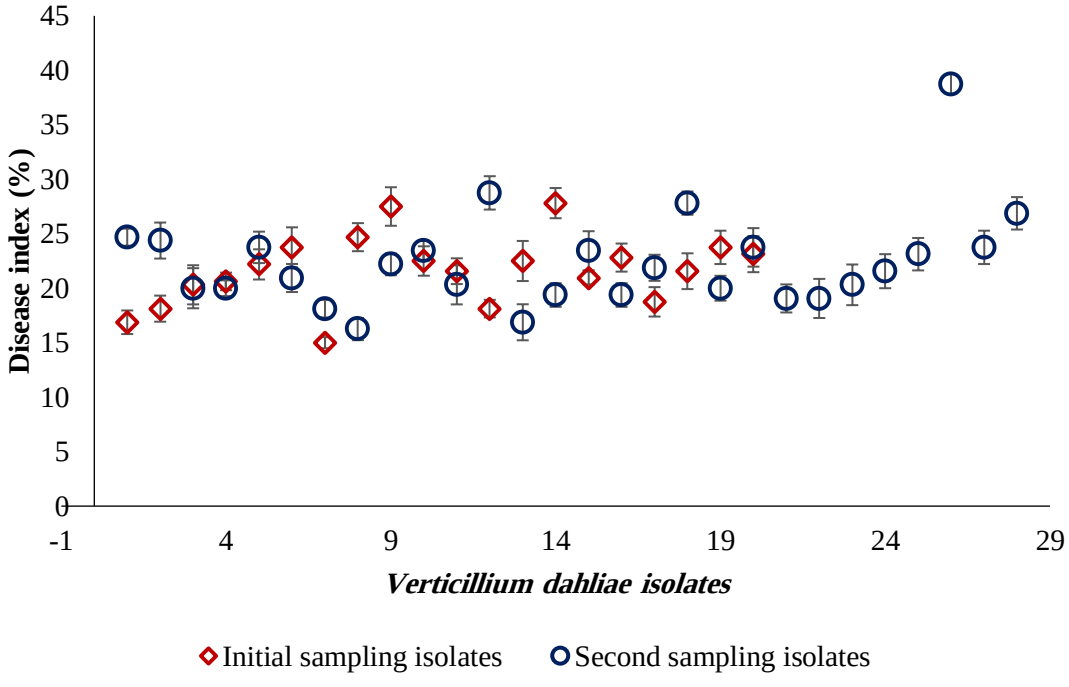
تنوع بیماری‌زایی جدایه‌های قارچی و انتخاب جدایه برتر

مقایسه نتایج حاصل از آزمون‌های بیماری‌زایی ۴۸ جدایه‌ی جداسازی‌شده از خاک مزرعه نشان داد که تمامی جدایه‌های شناسایی‌شده، توانایی ایجاد بیماری بر روی گیاهچه‌های پنبه رقم Varamin را دارا بوده و موجب بروز علایمی نظیر زردی برگ‌ها و پژمردگی آوندی شدند. نتایج نشان داد که در نمونه‌برداری‌های اولیه و ثانویه، به ترتیب ۲۰ و ۲۸ جدایه قارچی جداسازی و شناسایی شدند (شکل ۱). تجزیه وتحلیل آماری داده‌ها وجود اختلاف معنی‌دار در

شاخص بیماری میان جدایه‌های مختلف قارچ را تأیید نمود (شکل ۱). میزان بیماریزایی جدایه‌های مختلف *V. dahliae* روی گیاهچه‌های حساس رقم Varamin نشان داد که تمامی جدایه‌های جداسازی شده، بیماریزا و یا کم بیماریزا بودند. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، شاخص بیماری جدایه‌های حاصل از نمونه‌برداری اولیه در محدوده ۰/۵۱ ± ۱۵/۰۰ تا ۱/۳۸ ± ۲۷/۸۱ درصد و در جدایه‌های مربوط به نمونه‌برداری ثانویه در محدوده ۱/۰۲ ± ۱۶/۲۵ تا ۰/۹۱ ± ۳۸/۷۵ درصد متغیر بود که این نتایج بیانگر تنوع معنی‌دار در شدت بیماری‌زایی جدایه‌ها می‌باشد (شکل ۱). با توجه به شدت علایم بیماری ایجاد شده روی گیاهچه‌های حساس رقم Varamin و به‌همراه نتایج شناسایی مولکولی، جدایه VDYb76 به عنوان پاتوتیپ برگ‌ریز برای بررسی‌های بعدی انتخاب شد.

تأثیر مایه‌زنی مصنوعی روی صفات زراعی ارقام مختلف پنبه در گلخانه

مقایسه میانگین صفات زراعی در ارقام مختلف پنبه نشان داد که ارقام از نظر طول گیاهچه، تعداد برگ‌های سالم، تعداد شاخه‌های رویا و وزن خشک اندام هوایی و ریشه تفاوت معنی‌داری دارند و مقادیر این شاخص‌ها به رقم وابسته است (جدول ۲). در ارزیابی گلخانه‌ای، میانگین طول گیاهچه در تیمارهای شاهد بین ۲۹/۰ تا ۴۵/۵ سانتی‌متر، تعداد برگ‌های سالم بین ۴ تا ۹، تعداد شاخه‌های رویا بین ۱ تا ۴، وزن خشک اندام هوایی بین ۰/۲۴۱ تا ۱/۲۲۱ گرم و وزن خشک ریشه بین ۰/۱۱۸ تا ۰/۳۹۵ گرم متغیر بود (جدول ۲). در تیمارهای مایه‌زنی شده با قارچ *V. dahliae*، طول



شکل ۱- مقایسه شاخص بیماری‌زایی جدایه‌های مختلف *Verticillium dahliae* جمع‌آوری‌شده از نمونه‌برداری‌های اولیه (۲۰ جدایه ◇) و ثانویه (۲۸ جدایه ○) خاک مزرعه تحقیقاتی روی گیاهچه‌های پنبه رقم Varamin. نمادها نشان‌دهنده میانگین ± خطای استاندارد.

Figure 1. Comparison of the disease index of different *Verticillium dahliae* isolates collected from initial (20 isolates ◇) and secondary (28 isolates ○) soil samplings of the research farm on cotton seedlings of Varamin cultivar. Symbols represent mean ± standard error.

گیاهچه بین ۲۳/۰ تا ۴۱/۷ سانتی‌متر، تعداد برگ‌های سالم بین ۲ تا ۸، تعداد شاخه‌های رویا بین ۱ تا ۳، وزن خشک اندام هوایی بین ۰/۱۲۲ تا ۰/۸۲۸ گرم و وزن خشک ریشه بین ۰/۰۶۳ تا ۰/۲۳۸ گرم گزارش شد (جدول ۲). بالاترین طول گیاهچه و بیشترین میانگین تعداد شاخه‌های رویا در هر دو تیمار شاهد و مایه‌زنی شده مربوط به ارقام GW22-1513،

GW22-1361 و Ashor بود، در حالی که بیشترین تعداد برگ‌های سالم و بیشترین وزن خشک اندام هوایی و ریشه به رقم GW22-1513 اختصاص داشت.

مایه‌زنی مصنوعی ارقام مختلف پنبه با قارچ بیمارگر پژمردگی ورتیسیلیومی منجر به کاهش معنی‌دار تمامی صفات زراعی مورد ارزیابی نسبت به تیمارهای شاهد گردید. این کاهش در طول گیاهچه بین ۷ درصد (رقم GW22-1361) تا ۱۸ درصد (رقم Varamin)، در تعداد برگ‌های سالم بین ۷ درصد (GW22-1361) تا ۳۹ درصد (Varamin) و در تعداد شاخه‌های رویا بین ۸ درصد (GW22-1513) تا ۵۰ درصد (Varamin) متغیر بود. همچنین، وزن خشک اندام هوایی بین ۳۲ درصد (GW22-1513) تا ۴۹ درصد (Varamin) و وزن خشک ریشه بین ۳۲ درصد (GW22-1513) تا ۴۶ درصد (Varamin) کاهش نشان داد. به طور کلی، ارقام مورد مطالعه در مقایسه با رقم حساس Varamin، سطوح متفاوتی از تحمل به آلودگی از خود بروز دادند و حساسیت کمتری نسبت به قارچ عامل پژمردگی ورتیسیلیومی نشان دادند.

جدول ۲- اثر مایه‌زنی مصنوعی با *Verticillium dahliae* روی صفات زراعی ارقام پنبه در شرایط کنترل شده

Table 2. Effect of artificial inoculation with *Verticillium dahliae* on agronomic traits of cotton cultivars under *conditions* gr*eenhouse*

Cultivars	Non-inoculated treatment (without pathogen)				
	Seedling length (cm)	Plant height (cm)	Number of monopodial branch	Shoot dry weight (g)	Root dry weight (g)
Erguven	32.5 ± 0.3 e	5.5 ± 0.3 f	2.0 ± 0.0 b	0.870 ± 0.001 d	0.251 ± 0.003 d
Efe09	36.2 ± 0.2 b	6.5 ± 0.3 cde	2.2 ± 0.2 b	0.949 ± 0.012 c	0.287 ± 0.008 c
GW22-1361	44.7 ± 0.2 a	7.5 ± 0.3 ab	3.2 ± 0.2 a	1.172 ± 0.010 b	0.352 ± 0.004 b
GW22-1513	45.5 ± 0.3 a	8.0 ± 0.4 a	3.2 ± 0.2 a	1.221 ± 0.012 a	0.395 ± 0.001 a
PM39	36.5 ± 0.3 b	6.7 ± 0.2 bcd	2.2 ± 0.2 b	0.937 ± 0.013 c	0.272 ± 0.006 c
May509	34.0 ± 0.4 d	5.7 ± 0.2 ef	2.2 ± 0.2 b	0.872 ± 0.009 d	0.249 ± 0.010 d
Ashor	44.7 ± 0.2 a	7.2 ± 0.2 abc	3.2 ± 0.2 a	1.180 ± 0.003 b	0.353 ± 0.001 b
Varamin	35.2 ± 0.5 c	4.5 ± 0.3 g	2.0 ± 0.0 b	0.241 ± 0.009 e	0.118 ± 0.006 f
Golestan	29.0 ± 0.4 f	6.2 ± 0.2 def	1.7 ± 0.2 b	0.942 ± 0.001 c	0.178 ± 0.002 e
CV	**1.77**	**8.95**	**17.83**	**1.97**	**4.09**

Cultivars	Inoculated treatment (Artificially inoculated with *Verticillium dahliae*)					Field disease severity index (%)	Reaction type
	Seedling length (cm)	Plant height (cm)	Number of monopodial branch	Shoot dry weight (g)	Root dry weight (g)		
Erguven	26.2 ± 0.5 d	4.2 ± 0.2 e	1.2 ± 0.2 bc	0.489 ± 0.001 g	0.158 ± 0.003 d	24.1 ± 0.5 c	Susceptible
Efe09	30.7 ± 0.5 b	5.2 ± 0.2 c	1.7 ± 0.2 b	0.541 ± 0.002 ef	0.183 ± 0.002 c	16.7 ± 0.6 e	Moderately resistant
GW22-1361	41.2 ± 0.2 a	7.0 ± 0.0 ab	2.7 ± 0.2 a	0.763 ± 0.003 c	0.235 ± 0.007 b	8.9 ± 0.5 g	Relatively resistant
GW22-1513	41.7 ± 0.2 a	7.2 ± 0.2 a	3.0 ± 0.0 a	0.828 ± 0.001 a	0.267 ± 0.002 a	5.2 ± 0.6 h	Relatively resistant
PM39	31.2 ± 0.2 b	5.5 ± 0.3 c	1.2 ± 0.2 bc	0.565 ± 0.006 d	0.175 ± 0.003 c	35.1 ± 0.6 b	Susceptible
May509	28.5 ± 0.3 c	4.5 ± 0.3 de	1.5 ± 0.3 bc	0.533 ± 0.007 f	0.162 ± 0.003 d	18.3 ± 0.2 d	Moderately resistant
Ashor	41.0 ± 0.4 a	6.5 ± 0.3 b	2.7 ± 0.2 a	0.787 ± 0.003 b	0.238 ± 0.002 b	10.5 ± 0.5 f	Relatively resistant
Varamin	29.0 ± 0.4 c	2.7 ± 0.2 f	1.0 ± 0.0 c	0.122 ± 0.003 h	0.063 ± 0.003 f	45.2 ± 0.5 a	Susceptible
Golestan	24.5 ± 0.3 e	5.0 ± 0.0 cd	1.5 ± 0.3 bc	0.549 ± 0.002 e	0.119 ± 0.002 e	18.2 ± 0.6 de	Moderately resistant
CV	**2.18**	**8.84**	**24.79**	**1.33**	**4.30**	**5.13**	-

واکنش ارقام مختلف پنبه به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی در مزرعه و گلخانه

نتایج ارزیابی حساسیت هشت رقم پنبه به جدایه بیماری‌زای VDYb76 از قارچ *V. dahliae* در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه تحقیقاتی ایستگاه کارکنده که به طور

طبیعی آلوده به عوامل بیماری‌زای خاکزی به ویژه عامل پژمردگی ورتیسیلیومی بود، نشان داد که ارقام مختلف سطوح مقاومت متفاوت و معنی‌داری نسبت به این بیمارگر از خود بروز می‌دهند (شکل ۲ و شکل ۳).

ارزیابی حساسیت ارقام پنبه در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای نشان داد که رقم GW22-1513 پایین‌ترین میزان بروز بیماری و شاخص بیماری را به ترتیب با ۰/۰ ± ۱۰/۰ و ۰/۵ ± ۵/۰ درصد در گلخانه و ۰/۱ ± ۱۶/۸ و ۰/۶ ± ۵/۲ درصد در مزرعه از خود نشان داد (جدول ۲، شکل ۲ و شکل ۳). به طور کلی، ارقام مورد مطالعه طیفی از حساسیت را بین رقم حساس Varamin (با شاخص شدت بیماری بیش از ۳۰ درصد) و رقم نسبتاً مقاوم GW22-1513 (با شاخص شدت بیماری کمتر از ۱۰ درصد) نشان دادند و هیچ یک از ارقام مورد آزمایش مقاومت کامل (شاخص شدت بیماری صفر درصد) نسبت به پژمردگی ورتیسیلیومی از خود بروز ندادند (شکل ۲ و شکل ۳).

ارزیابی حساسیت ارقام مختلف پنبه نشان داد که ارقام GW22-1513، GW22-1361، Ashor و Efe09 نسبت به رقم دارای مقاومت متوسط Golestan حساسیت کمتری به پژمردگی ورتیسیلیومی از خود نشان داده و سطوح بالاتری از مقاومت را بروز دادند. به‌ویژه، ارقام GW22-1513، GW22-1361 و Ashor در هر دو شرایط آلودگی طبیعی مزرعه و مایه‌زنی مصنوعی، حساسیت کمتری نسبت به سایر ارقام و رقم دارای مقاومت متوسط Golestan داشتند و می‌توان آن‌ها را به عنوان ارقام نسبتاً مقاوم در برابر قارچ عامل پژمردگی ورتیسیلیومی معرفی کرد (جدول ۲).

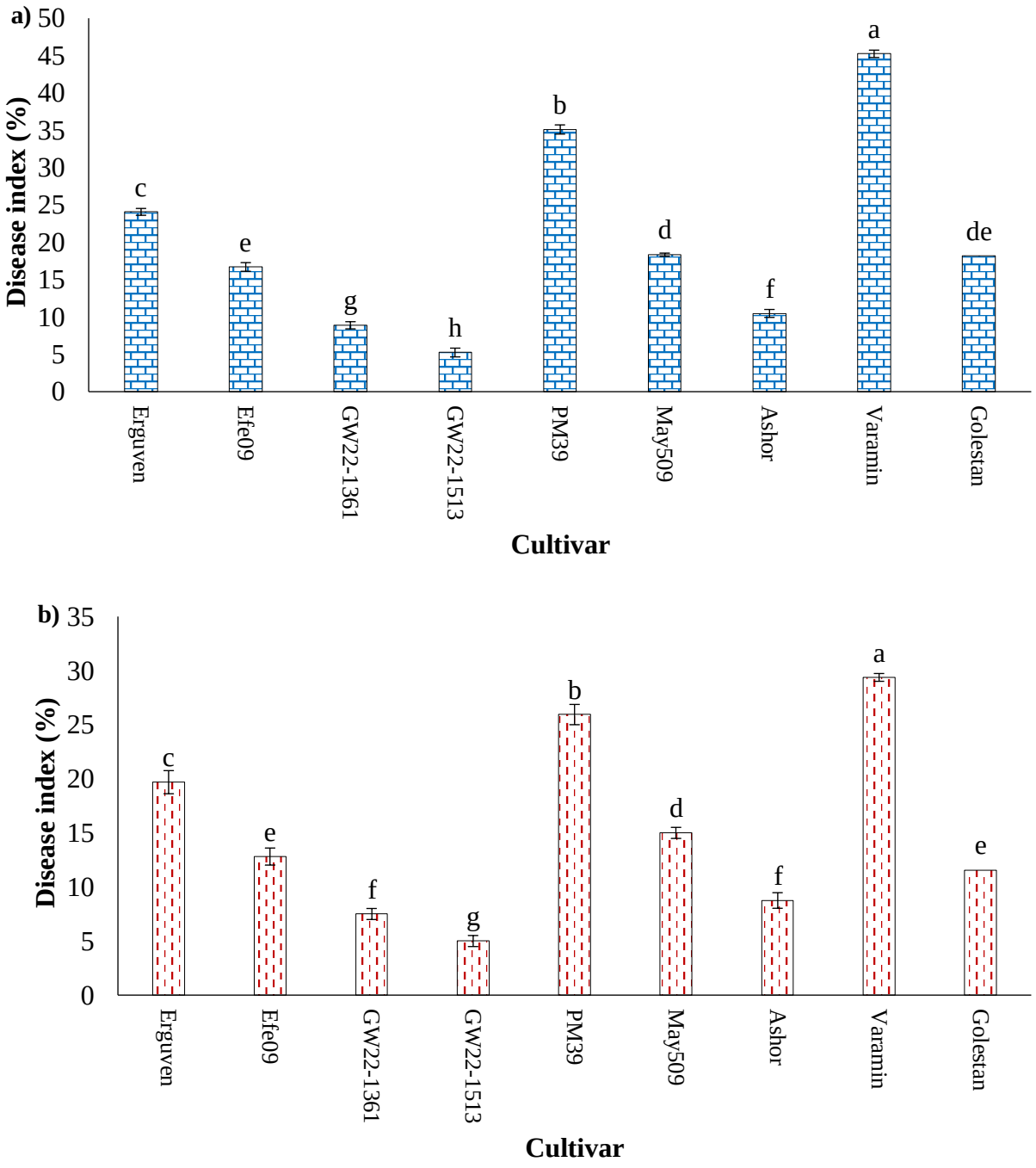
تغییرات محتوای پروتئین کل در پاسخ به آلودگی

نتایج نشان داد که محتوای پروتئین کل برگ‌های ارقام مختلف پنبه تحت شرایط آلوده و غیرآلوده به طور معنی‌داری متفاوت است. آلودگی به *V. dahliae* موجب افزایش محتوای پروتئین کل در برگ‌ها شد، به‌گونه‌ای که در ارقام Varamin، PM39 و Erguven این افزایش تا روز ششم پس از مایه‌زنی به حداکثر رسید و سپس کاهش یافت (شکل ۴). با این حال، در تمام زمان‌های اندازه‌گیری، سطح پروتئین کل در این ارقام همچنان کمتر از ارقام GW22-1513، GW22-1361، Ashor، Efe09، Golestan و May509 بود (شکل ۴). بیشترین و کمترین میزان پروتئین محلول کل برگ‌ها به ترتیب در رقم BA911 در روز نهم پس از آلودگی و رقم Varamin در روز ششم پس از آلودگی مشاهده شد (شکل ۴). در ارقام GW22-1513، GW22-1361، Ashor، Efe09، Golestan و May509 نیز محتوای پروتئین پس از آلودگی تا روز نهم افزایش یافت و سپس کاهش نسبی نشان داد، اما همواره از سطح پروتئین گیاهان غیرآلوده بالاتر باقی ماند (شکل ۴).

پاسخ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و دفاعی در ارقام مختلف پنبه

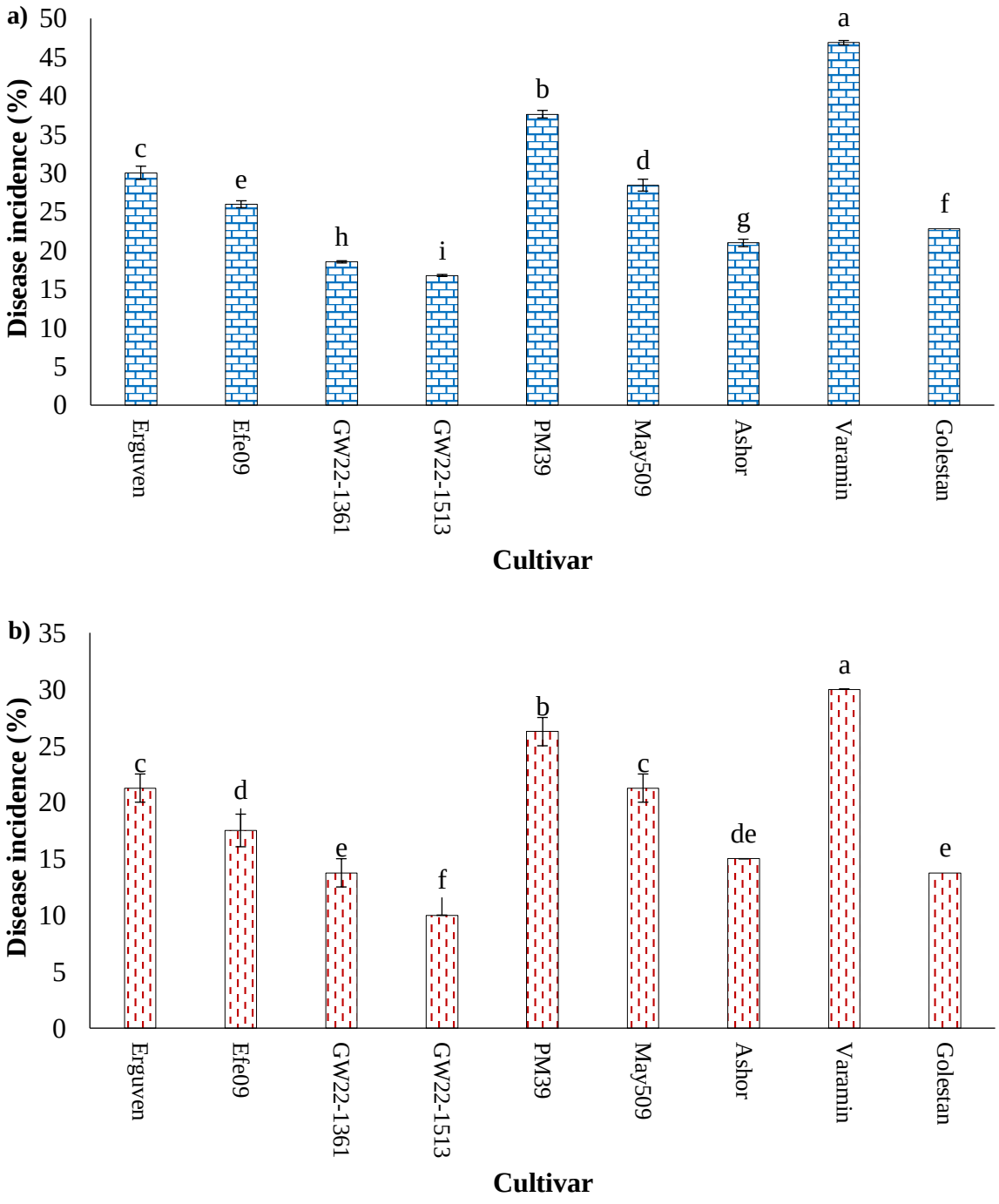
فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی شامل سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز و آنزیمهای دفاعی شامل پلی‌فنول‌اکسیداز و فنیل آلانین آمونیالیاز در گیاهچه‌های پنبه به منظور بررسی نقش این آنزیم‌ها در مقاومت پایه ارقام مختلف در برابر قارچ *V. dahliae* و روند تغییرات فعالیت آن‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج نشان داد که پس از آلودگی، سطح فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تمامی زمان‌های بررسی نسبت به گیاهان غیرآلوده به‌طور قابل توجهی افزایش یافت (شکل ۵). در ارقام GW22-1513، GW22-1361، Ashor، Efe09، Golestan و May509، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به‌طور پیوسته افزایش یافت و در روز ششم پس از آلودگی به حداکثر مقدار خود رسید (شکل ۵). در مقابل، ارقام Varamin، PM39 و Erguven، با وجود افزایش فعالیت آنزیم پس از آلودگی، سطح آن نسبت به سایر ارقام کمتر بود و حداکثر فعالیت در روز نهم پس از آلودگی مشاهده شد (شکل ۵).



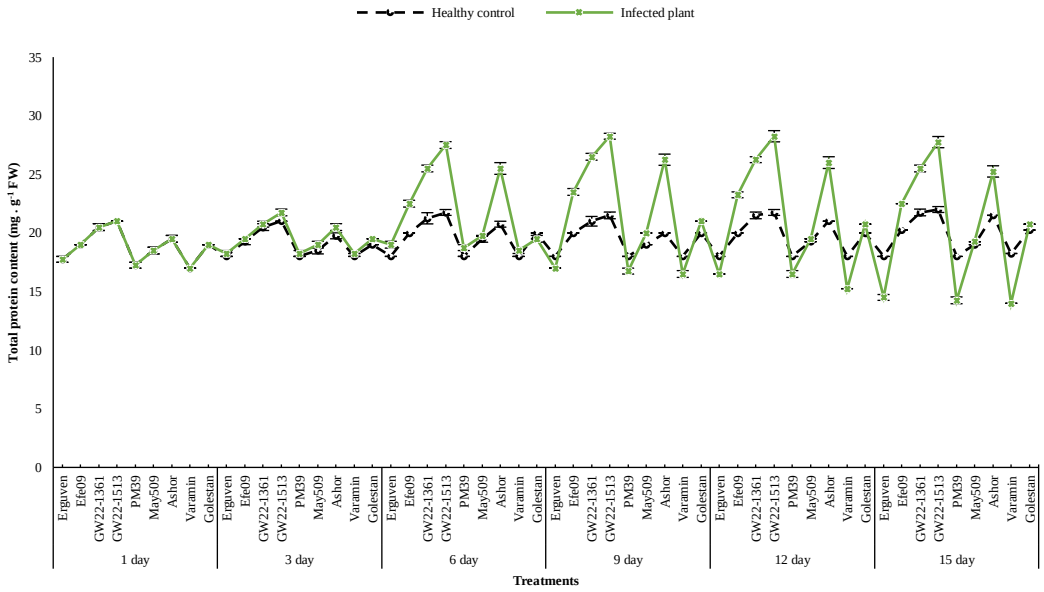
شکل ۲- درصد شاخص شدت بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی در ارقام مختلف پنبه تحت شرایط مزرعه با آلودگی طبیعی (a) و در گلخانه با مایه‌زنی مصنوعی (b)

Figure 2. Percentage of Verticillium wilt disease severity index in different cotton cultivars under field conditions with natural infection (a) and greenhouse conditions with artificial inoculation (b)



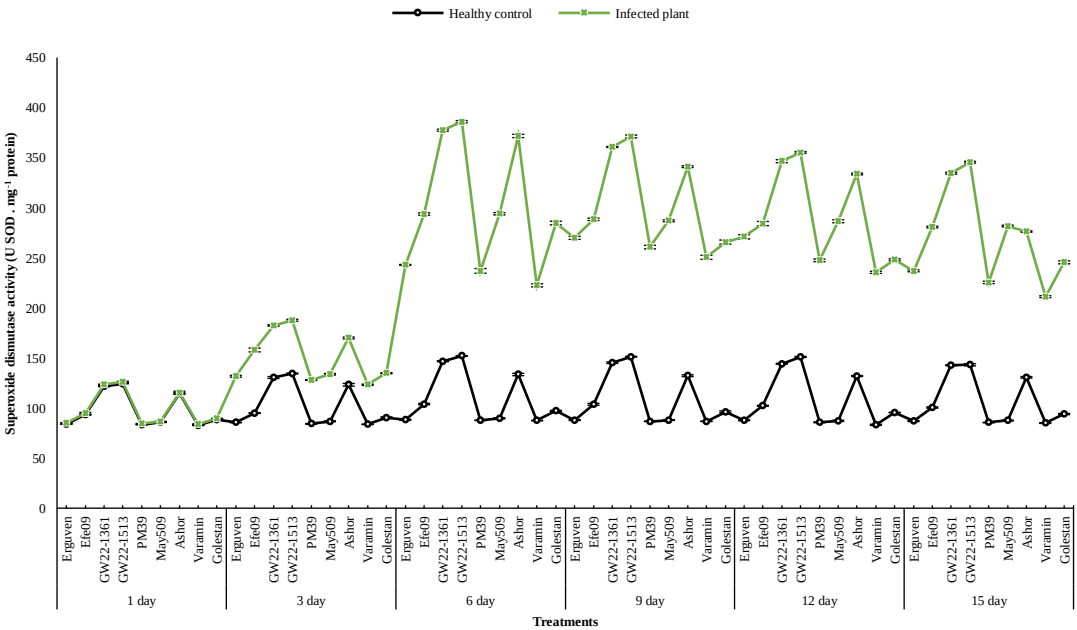
شکل ۳- درصد بروز بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی در ارقام مختلف پنبه تحت شرایط مزرعه با آلودگی طبیعی (a) و در گلخانه با مایه‌زنی مصنوعی (b)

Fig. 3. Percentage of Verticillium wilt disease incidence in different cotton cultivars under field conditions with natural infection (a) and greenhouse conditions with artificial inoculation (b)



شکل ٤- محتوای پروتئین کل در گیاهچه‌های ارقام مختلف پنبه در زمان‌های مختلف پس از آلودگی با جدایه VDYb76 از پاتوتیپ برگ‌ریز قارچ *Verticillium dahliae*. میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد ارائه شده و آزمایش دو بار با نتایج مشابه تکرار شد. اختصارات شکل: گیاه سالم (تیمار شاهد) - -●- - و گیاه مایه‌زنی شده (تیمار آلوده) ——●——

Figure 4. Total protein content in seedlings of different cotton cultivars at various time points after inoculation with VDYb76 isolate of the defoliating pathotype of *Verticillium dahliae* fungus. Data are presented as mean ± standard error, and the experiment was repeated twice with similar results. Abbreviations used in the figure: healthy plant (control) - -●- - and inoculated plant (infected) ——●——



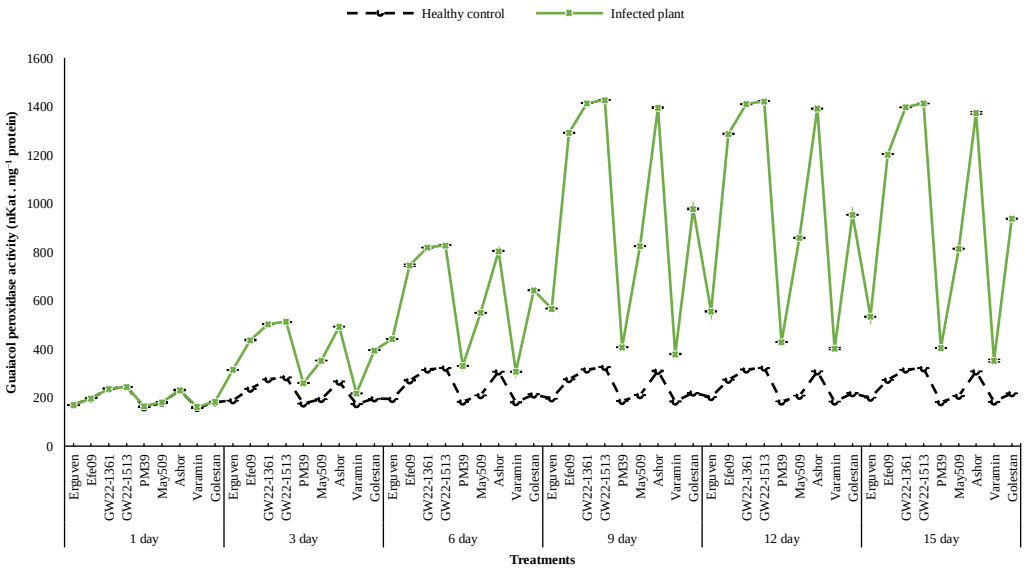
شکل ٥- فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاهچه‌های ارقام مختلف پنبه در زمان‌های مختلف پس از آلودگی با جدایه VDYb76 از پاتوتیپ برگ‌ریز قارچ *Verticillium dahliae*. میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد ارائه شده و آزمایش دو بار با نتایج مشابه تکرار شد. اختصارات شکل: گیاه سالم (تیمار شاهد) - -●- - و گیاه مایه‌زنی شده (تیمار آلوده) ——●——

Figure 5. Superoxide dismutase activity in seedlings of different cotton cultivars at various time points after inoculation with VDYb76 isolate of the defoliating pathotype of *Verticillium dahliae* fungus. Data are presented as mean ± standard error, and the experiment was repeated twice with similar results. Abbreviations used in the figure: healthy plant (control) - -●- - and inoculated plant (infected) ——●——

فعالیت گایاکول پراکسیداز در تیمارهای آلوده تمامی ژنوتیپ‌ها و ارقام پنبه، در مقایسه با نمونه‌های غیرآلوده، تا روز ششم پس از آلودگی روند افزایشی داشت و پس از آن کاهش یافت (شکل ۶). با این حال، در ارقام حساس Varamin، PM39 و Erguven، سطح فعالیت گایاکول پراکسیداز در گیاهان آلوده نسبت به نمونه‌های غیرآلوده کمی پایین‌تر بود و حداکثر فعالیت آن‌ها در روز نهم پس از آلودگی مشاهده شد (شکل ۶). پس از این زمان، میزان فعالیت گایاکول پراکسیداز در این ارقام کاهش یافت که بیانگر تفاوت قابل توجه در پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی بین ارقام مقاوم و حساس است.

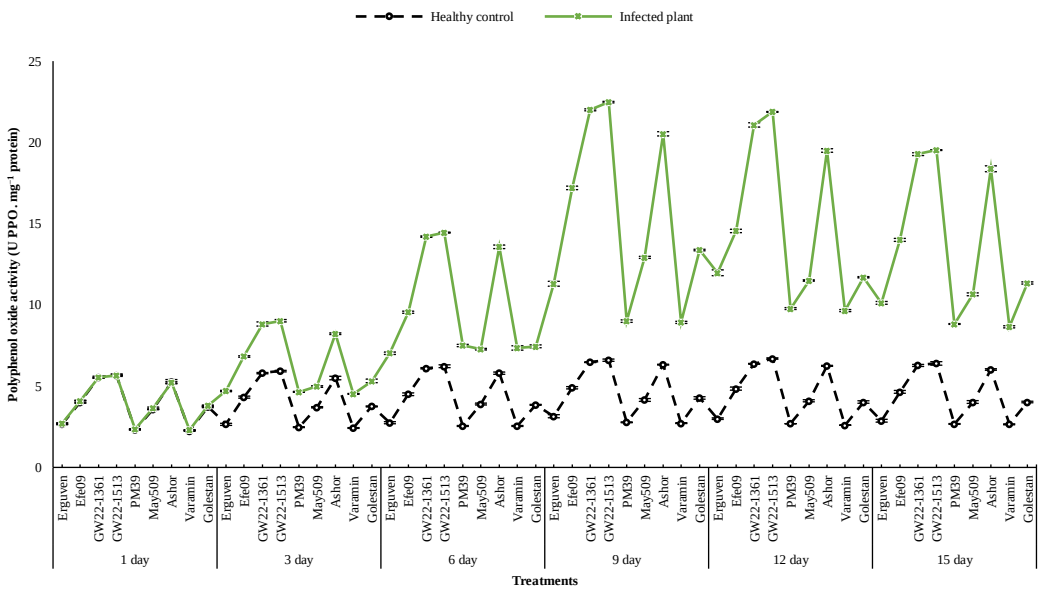
نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در تمامی ارقام پنبه پس از آلودگی با قارچ *V. dahliae* افزایش یافت (شکل ۷). در ارقام مقاوم GW22-1513، GW22-1361، Ashor، Efe09، Golestan و May509، این افزایش تا روز نهم پس از آلودگی ادامه یافت و به حداکثر رسید، در حالی که در ارقام حساس Varamin، PM39 و Erguven، بیشینه فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز تا روز دوازدهم به تأخیر افتاد (شکل ۷). علاوه بر این، سطح فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در ارقام حساس پایین‌تر از سایر ژنوتیپ‌ها بود که نشان‌دهنده پاسخ آنتی‌اکسیدانی کندتر و کمتر فعال در این ارقام است.

فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز در گیاهچه‌های ژنوتیپ‌ها و ارقام مختلف پنبه به منظور بررسی نقش آن در مقاومت پایه نسبت به قارچ *V. dahliae* مورد ارزیابی قرار گرفت (شکل ۸). نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز در گیاهان آلوده به طور قابل توجهی بالاتر از گیاهان غیرآلوده بود (شکل ۸). در ارقام مقاوم GW22-1513، GW22-1361، Ashor، Efe09، Golestan و May509، فعالیت آنزیم تا ششمین روز پس از مایه‌زنی به بیشینه رسید و سپس کاهش یافت، در حالی که در ارقام حساس Varamin، PM39 و Erguven، حداکثر فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز با تأخیر در روز نهم مشاهده شد (شکل ۸). این یافته‌ها نشان‌دهنده پاسخ سریع و قوی‌تر سیستم دفاعی در ارقام مقاوم و واکنش کندتر و ضعیف‌تر دفاعی در ارقام حساس است.



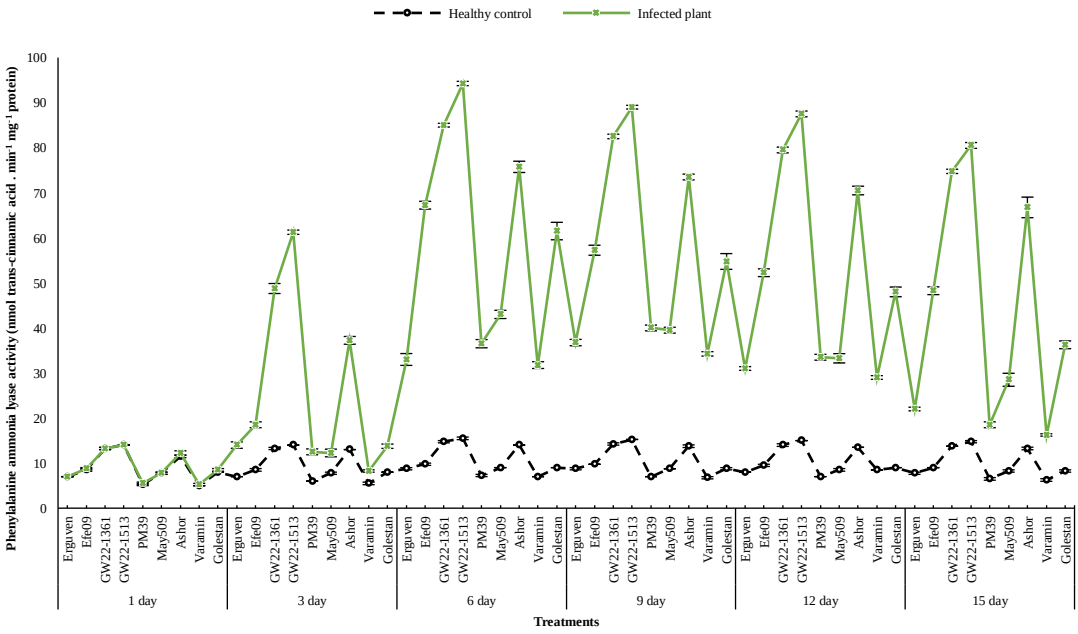
شکل ٦- فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاهچه‌های ارقام مختلف پنبه در زمان‌های مختلف پس از آلودگی با جدایه VDYb76 از پاتوتیپ برگ‌ریز قارچ *Verticillium dahliae*. میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد ارائه شده و آزمایش دو بار با نتایج مشابه تکرار شد. اختصارات شکل: گیاه سالم (تیمار شاهد) - -●- - و گیاه مایه‌زنی شده (تیمار آلوده) ——

Figure 6. Guaiacol peroxidase activity in seedlings of different cotton cultivars at various time points after inoculation with VDYb76 isolate of the defoliating pathotype of *Verticillium dahliae* fungus. Data are presented as mean ± standard error, and the experiment was repeated twice with similar results. Abbreviations used in the figure: healthy plant (control) - -●- - and inoculated plant (infected) ——



شکل ۷- فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در گیاهچه‌های ارقام مختلف پنبه در زمان‌های مختلف پس از آلودگی با جدایه VDYb76 از پاتوتیپ برگ‌ریز قارچ *Verticillium dahliae*. میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد ارائه شده و آزمایش دو بار با نتایج مشابه تکرار شد. اختصارات شکل: گیاه سالم (تیمار شاهد) - -•- - و گیاه مایه‌زنی شده (تیمار آلوده) ——•——

Figure 7. Polyphenol oxidase activity in seedlings of different cotton cultivars at various time points after inoculation with VDYb76 isolate of the defoliating pathotype of *Verticillium dahliae* fungus. Data are presented as mean ± standard error, and the experiment was repeated twice with similar results. Abbreviations used in the figure: healthy plant (control) - -•- - and inoculated plant (infected) ——•——



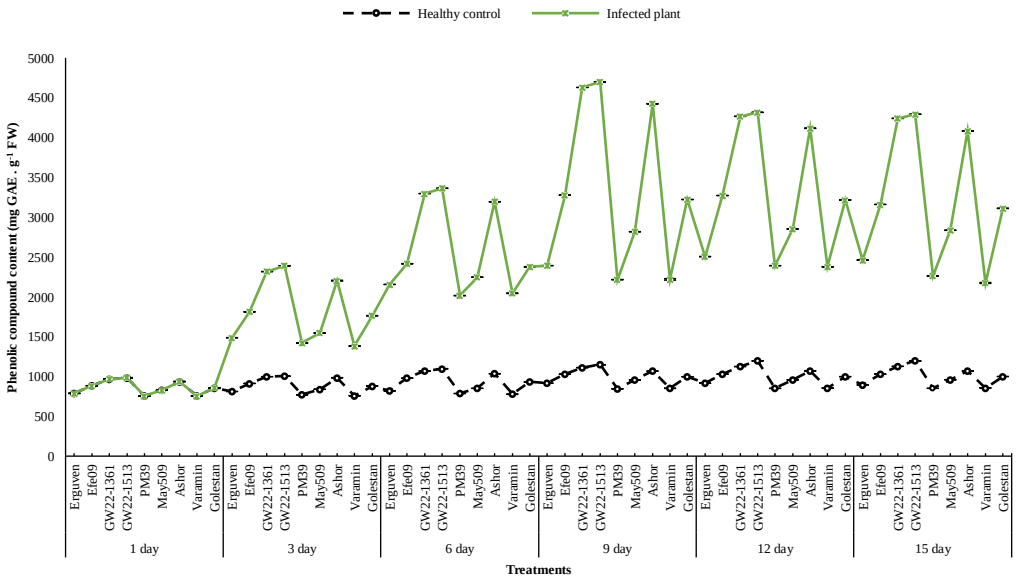
شکل ۸- فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز در گیاهچه‌های ارقام مختلف پنبه در زمان‌های مختلف پس از آلودگی با جدایه VDYb76 از پاتوتیپ برگ‌ریز قارچ *Verticillium dahliae*. میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد ارائه شده و آزمایش دو بار با نتایج مشابه تکرار شد. اختصارات شکل: گیاه سالم (تیمار شاهد) - -•- - و گیاه مایه‌زنی شده (تیمار آلوده) ——•——

Figure 8. Phenylalanine ammonia-lyase activity in seedlings of different cotton cultivars at various time points after inoculation with VDYb76 isolate of the defoliating pathotype of *Verticillium dahliae* fungus. Data are presented as mean ± standard error, and the experiment was repeated twice with similar results. Abbreviations used in the figure: healthy plant (control) - -•- - and inoculated plant (infected) ——•——

تغییرات ترکیبات فنلی و لیگنین در پاسخ به آلودگی

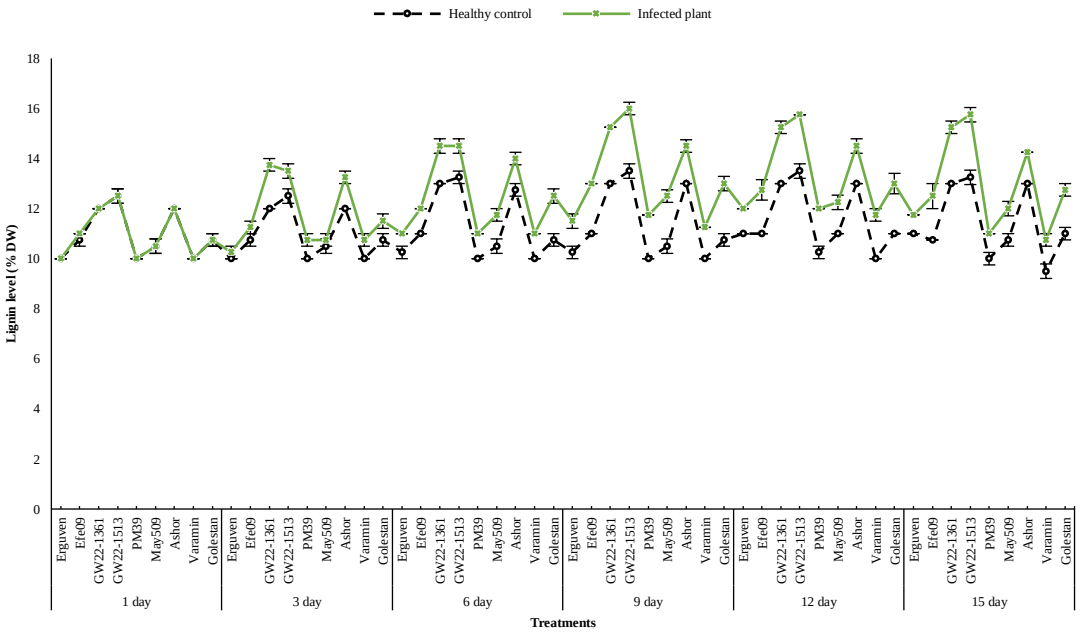
نتایج نشان داد که میزان کل ترکیبات فنلی در برگ‌های ارقام مختلف پنبه تحت شرایط آلوده و غیرآلوده به طور معناداری متفاوت بود. در گیاهان آلوده، سطح ترکیبات فنلی در تمام زمان‌های بررسی بالاتر از گیاهان غیرآلوده ثبت شد. در ارقام مقاوم‌تر شامل GW22-1513، GW22-1361، Ashor، Efe09، Golestan و May509، تجمع ترکیبات فنلی تا روز نهم پس از آلودگی افزایش یافته و پس از آن کاهش نسبی نشان داد (شکل ۹). در مقابل، ارقام حساس‌تر مانند Varamin، PM39 و Erguven پس از مایه‌زنی با *V. dahliae*، افزایش تجمع ترکیبات فنلی تا روز دوازدهم ادامه داشت، اما میزان آن کمتر از ارقام مقاوم بود (شکل ۹). به‌طور کلی، بیشترین سطح تجمع ترکیبات فنلی در گیاهچه‌های آلوده مربوط به رقم GW22-1513 بود و پس از آن به ترتیب ارقام GW22-1361، Ashor، Efe09، Golestan و May509 قرار داشتند (شکل ۹) که اهمیت این ترکیبات در مقاومت نسبی این ژنوتیپ‌ها در برابر بیمارگر را آشکار می‌سازد.

تغییرات تولید لیگنین در ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف پنبه به منظور بررسی نقش آن در مقاومت پایه نسبت به *V. dahliae* مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان چوب‌شدگی بافت‌ها (lignification) در گیاهان آلوده نسبت به گیاهان غیرآلوده به طور قابل توجهی بالاتر بود (شکل ۱۰). در ارقام مقاوم‌تر، تولید لیگنین پس از آلودگی تا روز نهم به حداکثر رسید و پس از آن کاهش نسبی نشان داد. در مقابل، در ارقام حساس‌تر مانند Varamin، PM39 و Erguven، افزایش تجمع لیگنین با تأخیر (روز دوازدهم پس از آلودگی) و با سطح پایین‌تری مشاهده شد (شکل ۱۰). علاوه بر این، در بیشتر زمان‌های اندازه‌گیری، میزان لیگنین در تعامل ارقام GW22-1513، GW22-1361، Ashor، Efe09، Golestan و May509 با *V. dahliae* به‌طور معنی‌داری بیشتر از ارقام حساس بود که بر اهمیت نقش لیگنین در ایجاد مقاومت نسبی این ارقام در برابر قارچ بیماری‌زا تأکید دارد (شکل ۱۰).



شکل ۹- میزان ترکیبات فنل در گیاهچه‌های ارقام مختلف پنبه در زمان‌های مختلف پس از آلودگی با جدایه VDYb76 از پاتوتیپ برگ‌ریز قارچ *Verticillium dahliae*. میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد ارائه شده و آزمایش دو بار با نتایج مشابه تکرار شد. اختصارات شکل: گیاه سالم (تیمار شاهد) - -●- - و گیاه مایه‌زنی شده (تیمار آلوده) ——●——

Figure 9. Phenolic compound content in seedlings of different cotton cultivars at various time points after inoculation with VDYb76 isolate of the defoliating pathotype of *Verticillium dahliae* fungus. Data are presented as mean ± standard error, and the experiment was repeated twice with similar results. Abbreviations used in the figure: healthy plant (control) - -●- - and inoculated plant (infected) ——●——



شکل ۱۰- سطوح لیگنین در برگ‌های ارقام مختلف پنبه در زمان‌های مختلف پس از آلودگی با جدایه VDYb76 از پاتوتیپ برگ‌ریز قارچ *Verticillium dahliae*. میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد ارائه شده و آزمایش دو بار با نتایج مشابه تکرار شد. اختصارات شکل: گیاه سالم (تیمار شاهد) -●- - و گیاه مایه‌زنی شده (تیمار آلوده) ——

Figure 10. Lignin levels in leaves of different cotton cultivars at various time points after inoculation with VDYb76 isolate of the defoliating pathotype of *Verticillium dahliae* fungus. Data are presented as mean ± standard error, and the experiment was repeated twice with similar results. Abbreviations used in the figure: healthy plant (control) -●- and inoculated plant (infected) ——

بحث

بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی با اختلال در عملکرد سیستم آوندی، موجب محدود شدن انتقال آب و مواد غذایی به اندام‌های هوایی شده و در نتیجه رشد رویشی گیاه کاهش یافته و عملکرد نهایی محصول به‌طور قابل توجهی تضعیف می‌شود (Pegg & Brady, 2002). این بیماری با ایجاد محدودیت‌های جدی در تولید، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین چالش‌های زراعی پنبه مطرح است؛ از این‌رو، بررسی پویایی جمعیت قارچ، تنوع ژنوتیپی آن و نحوه پاسخ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه میزبان به بیمارگر، نقشی اساسی در تدوین و توسعه راهبردهای مدیریتی کارآمد و پایدار ایفا می‌کند (Inderbitzin et al., 2011).

در این پژوهش، توان مقاومت ژنتیکی ارقام مختلف پنبه وارداتی نسبت به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی مورد بررسی قرار گرفت و تأثیر آلودگی‌های طبیعی و مایه‌زنی مصنوعی بیمارگر روی صفات مهم زراعی، از جمله رشد رویشی و عملکرد گیاه، ارزیابی شد. علاوه بر این، به‌منظور شناسایی سازوکارهای دفاعی گیاه در برابر این بیماری، میزان پروتئین کل برگ‌ها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز و همچنین آنزیم‌های دفاعی پلی‌فنول‌اکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز به‌عنوان شاخص‌های بیوشیمیایی پاسخ دفاعی گیاه تعیین شد.

یافته‌های این پژوهش نشان داد که تراکم جمعیت قارچ *V. dahliae* در خاک مزرعه تحقیقاتی ایستگاه کارکنده از پیش از کاشت تا پایان دوره رشد گیاه به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده است. این افزایش بیانگر فعال‌شدن زادمایه بیمارگر در حضور گیاه میزبان و فراهم‌شدن شرایط مناسب برای تکثیر و بقای قارچ در طول فصل زراعی می‌باشد. مقایسه جمعیت قارچ *V. dahliae* در خاک کرت‌های حاوی ارقام مختلف نشان داد که در مرحله پیش از کاشت، میانگین

جمعیت قارچ در کرت مورد کشت رقم حساس ورامین و دارای مقاومت متوسط گلستان به ترتیب ۵/۲۵ و ۵/۵ پرگنه در هر گرم خاک خشک بود. در پایان فصل رشد، این میانگین به ترتیب به ۷/۲۵ و ۶/۵ پرگنه افزایش یافت. در این پژوهش با مقایسه تیمارهای دارای گیاه و بدون گیاه (شاهد)، مشخص شد که جمعیت قارچ تنها در خاک کرت‌های کشت‌شده افزایش یافت. این امر نشان می‌دهد که ترشحات ریشه گیاه پنبه به عنوان منبع غذایی، نقش اصلی را در تحریک رشد و افزایش جمعیت بیمارگر و تحریک جوانه‌زنی ریزسختینه‌ها دارد (Pegg & Brady, 2002; Fradin & Thomma, 2006). در سایر ارقام مورد آزمون نیز میانگین جمعیت قارچ از دامنه ۵ تا ۷ پرگنه قبل از کاشت به دامنه ۶ تا ۸ پرگنه در پایان فصل رشد رسید. میزان افزایش جمعیت قارچ در کرت‌های حاوی ارقام مختلف یکسان نبود. این تفاوت نشان می‌دهد که علاوه بر حضور میزبان، ژنوتیپ گیاه نیز بر دینامیک جمعیت قارچ تأثیر می‌گذارد، به طوری که ارقام حساس بستر مناسب‌تری برای تکثیر بیمارگر فراهم می‌کنند (Wei et al., 2015; Wheeler & Woodward, 2016). تفاوت در نرخ افزایش جمعیت قارچ در کرت‌های آزمایشی مورد کشت ارقام مختلف، نشان‌دهنده نقش تعیین‌کننده ویژگی‌های ژنتیکی در تعامل با بیمارگر است. این مشاهدات با گزارش‌های سایر محققان که افزایش جمعیت قارچ را در حضور گیاه میزبان و تحت تأثیر نوسانات فصلی و شرایط اقلیمی مختلف تأیید کرده‌اند، مطابقت دارد (Pegg & Brady, 2002; Fradin & Thomma, 2006; Sanei et al., 2013).

افزایش تراکم جمعیت قارچ در خاک، نقش تعیین‌کننده‌ای در شدت بروز بیماری ایفا می‌کند، به‌گونه‌ای که سطح بالاتر زادمایه می‌تواند منجر به آلودگی زودهنگام ریشه‌ها، استقرار سریع‌تر قارچ در آوندهای چوبی و تشدید علایم پژمردگی شود (Wei et al., 2015; Wheeler & Woodward, 2016). در مجموع، یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که با وجود فشار بالای زادمایه اولیه در خاک، ارقام مورد مطالعه واکنش‌های متفاوتی از خود نشان دادند. نتایج حاکی از آن است که استفاده از ارقام دارای تحمل ژنتیکی مناسب می‌تواند با کاهش شدت بیماری، اثرات مخرب افزایش جمعیت قارچ را خنثی نماید. بنابراین، انتخاب رقمی با مقاومت بالا به عنوان یک استراتژی کلیدی، حتی در شرایطی که مدیریت کامل زادمایه خاک دشوار است، می‌تواند عملکرد و پایداری تولید پنبه را تضمین کند.

شناسایی ریخت‌شناختی همراه با تأیید مولکولی جدایه‌های قارچی جدا شده از خاک و ساقه‌های ارقام مختلف پنبه، بیمارگر را به‌طور قطعی *V. dahliae* معرفی کرد. تولید قطعه‌ای با اندازه ۵۳۰ جفت‌باز توسط آغازگرهای اختصاصی، صحت شناسایی ریخت‌شناختی قارچ *V. dahliae* را در جدایه‌های منتخب در سطح مولکولی تأیید کرد. این نتایج با گزارش‌های پیشین انجام شده در ایستگاه تحقیقاتی کارکنده (Arabsalmani et al., 2011; Hamidi et al., 2024) مطابقت دارد. نتایج آزمون بیماری‌زایی نشان داد که اگرچه تمامی جدایه‌ها قادر به ایجاد بیماری بودند، اما شدت علایم ایجادشده روی گیاهچه‌های رقم حساس ورامین متفاوت بود. این تفاوت در بیماری‌زایی می‌تواند ناشی از تنوع ژنتیکی و تفاوت در توانایی بیماری‌زایی جدایه‌ها باشد (Klosterman et al., 2009; Zhang et al., 2024a) که بر اهمیت شناسایی و مدیریت هدفمند جدایه‌های غالب و پرخطر در برنامه‌های کنترل بیماری تأکید می‌کند. تنوع قابل توجه در میزان بیماریزایی جدایه‌های جداسازی شده را می‌توان به وجود جمعیت‌های ژنتیکی متفاوت از قارچ *V. dahliae* در خاک مزرعه نسبت داد. این تنوع بیماریزایی در جدایه‌های *V. dahliae* جداسازی شده از یک مزرعه، پدیده‌ای شناخته شده است و می‌تواند ناشی از تفاوت در عوامل ژنتیکی مانند وجود یا عدم وجود ژن‌های عامل بیماریزایی باشد (Klosterman et al., 2009; Zhang et al., 2024a). بر اساس نتایج حاصل از ارزیابی علایم بیماری همچون ریزش برگ‌ها (Mercado-Blanco et al., 2002) روی گیاهچه‌های رقم ورامین و نتایج حاصل از شناسایی مولکولی با استفاده از آغازگرهای اختصاصی (Jafary et al., 2014) تأیید شد که جدایه‌ی VDYb76 در دسته پاتوتیپ برگ‌ریز قرار می‌گیرد.

بررسی صفات زراعی در شرایط غیرآلوده گلخانه‌ای نشان داد که بین ارقام پنبه از نظر طول گیاهچه، تعداد برگ‌های سالم، تعداد شاخه‌های رویشی و وزن خشک اندام هوایی و ریشه اختلاف معنی‌داری وجود دارد. این تفاوت‌ها منعکس‌کننده تنوع ژنتیکی ارقام و تفاوت در الگوی رشد آن‌هاست (Fang et al., 2014). با این حال، مایه‌زنی مصنوعی به قارچ *V. dahliae* موجب کاهش معنی‌دار تمامی صفات زراعی مورد بررسی شد. کاهش رشد رویشی در گیاهان آلوده ناشی از انسداد آوندهای چوبی و اختلال در انتقال آب و مواد مغذی است که منجر به کاهش فتوسنتز، تولید ماده خشک و عملکرد کلی گیاه می‌شود (Pegg & Brady, 2002; Fradin & Thomma, 2006). مطالعات نشان می‌دهند که شدت بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی ارتباط مستقیمی با کاهش شاخص‌های رشد رویشی و وزن خشک گیاه پنبه دارد و واکنش ارقام مختلف به آلودگی به میزان مقاومت ژنتیکی آن‌ها بستگی دارد (Bell, 1992; Zhang et al., 2012) که با مشاهدات این پژوهش مطابقت دارد.

نتایج این پژوهش نشان داد که ارقام مختلف پنبه در پاسخ به آلودگی با *V. dahliae* سطح‌های متفاوتی از مقاومت نسبی از خود بروز دادند. بر اساس معیارهای شاخص شدت بیماری، ارقام با شاخص کمتر از ۱۰ درصد (ارقام GW22-1513، GW22-1361 و Ashor) در گروه نسبتاً مقاوم، ارقام با شاخص ۱۱ تا ۲۹ درصد (ارقام Efe09 و May509) در گروه دارای مقاومت متوسط و ارقام با شاخص بیش از ۳۰ درصد در گروه حساس قرار گرفتند. بنابراین، ارقام GW22-1513، GW22-1361 و Ashor عملکرد بالاتری در برابر بیمارگر از خود نشان دادند. این تفاوت‌ها در شاخص بیماری و صفات زراعی به وضوح قابل مشاهده بود که نشان‌دهنده نقش تعیین‌کننده ارقام در پاسخ‌های مقاومتی پنبه است. نتایج این پژوهش با مشاهدات سایر محققان (Bolek et al., 2005; Nurimanguli et al., 2022) مطابقت دارد و نشان می‌دهد که ارقام مختلف پنبه پاسخ‌های متفاوتی به پژمردگی ورتیسیلیومی از خود بروز می‌دهند و برخی ارقام توانایی حفظ عملکرد و صفات زراعی در شرایط آلودگی را دارند. ارقام متحمل با حفظ عملکرد فیزیولوژیک و یکپارچگی ساختار آوندی، توانایی کاهش معنادار اثرات منفی بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی را دارند، که این امر بیانگر نقش تعیین‌کننده ویژگی‌های ژنتیکی در تعدیل شدت بیماری و کاهش تأثیرات آن بر رشد گیاه است (Li et al., 2014; Zhao et al., 2021; Aini et al., 2022). مقایسه نتایج حاصل از شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای نشان داد که ارقام GW22-1513 و GW22-1361 نه تنها در محیط کنترل‌شده بلکه در مزرعه‌ای با آلودگی طبیعی به قارچ *V. dahliae* کمترین شاخص بیماری و بیشترین عملکرد را نشان دادند، که بیانگر ثبات واکنش این ارقام در دو شرایط متفاوت (مزرعه با آلودگی طبیعی و گلخانه با مایه‌زنی مصنوعی) می‌باشد. اگرچه این نتایج نشان‌دهنده مقاومت نسبی مطلوب این ارقام است، اما اثبات پایداری واقعی مقاومت نیازمند آزمایش در سال‌ها و مکان‌های متعدد است (Zhang et al., 2020a; Aydoğdu et al., 2025). این نتایج با مشاهدات Aydoğdu et al. (2025) و Wang et al. (2025) مطابقت دارد و نشان می‌دهد که مقاومت نسبی برخی ارقام پنبه به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی در شرایط واقعی مزرعه پایدار بوده و به اهمیت انتخاب ارقام مناسب در استراتژی‌های مدیریت بیماری تأکید می‌کند. اگرچه در شرایط گلخانه، مایه‌زنی مصنوعی با غلظت مشخص باید منجر به شدت بیماری بالاتری شود، اما در این پژوهش شدت بیماری در مزرعه بیشتر از گلخانه بود. این پدیده را می‌توان به وجود جمعیت متنوع و مختلطی از جدایه‌های قارچ *V. dahliae* در خاک مزرعه (Klosterman et al., 2009)، اثر هم افزایی سایر بیمارگرهای خاکزی (Back et al., 2002) و تنش‌های متعدد محیطی در شرایط مزرعه که سیستم دفاعی گیاه را تضعیف می‌کنند (Fradin & Thomma, 2006; Zhang et al., 2012)، نسبت داد.

پژوهش‌های سایر محققان نشان می‌دهد که تفاوت در پاسخ ژنوتیپی ارقام پنبه به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی با تغییرات در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، آنزیم‌های دفاعی و تجمع ترکیبات فنلی مرتبط است، که بر ضرورت بررسی جامع سازوکارهای دفاعی بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی

گیاه به‌منظور طراحی استراتژی‌های مؤثر مدیریت این بیماری تأکید می‌کند (Klosterman et al., 2009; Inderbitzin et al., 2011; Zhou et al., 2017; Yang et al., 2025). پاسخ دفاعی میزبان در مراحل اولیه آلودگی ریشه‌ها توسط قارچ همی‌بیوتروفیک *V. dahliae* شامل فعال شدن سازوکارهای وابسته به مسیر اسید سالیسیلیک است (Zhang *et al*., 2020b). در مراحل بعدی، با پیشروی قارچ در آوندها و اختلال تدریجی در انتقال آب و مواد مغذّی (Zhang *et al*., 2022b)، مسیرهای جاسمونیک اسید/اتیلن فعال می‌شوند و پاسخ‌های دفاعی پایه گیاه نیز آغاز می‌شوند (Song et al., 2020). این پاسخ‌ها شامل انفجار اکسیداتیو، تقویت دیواره سلولی، تجمع و سنتز ترکیبات فنلی و تغییرات در رونویسی و بیان ژن‌های دفاعی است که همگی به محدود کردن پیشروی قارچ و کاهش آسیب بافت‌های گیاه کمک می‌کنند (Yang et al., 2018).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و دفاعی نیز در این پژوهش نقش مهمی در مقاومت نسبی ارقام داشت؛ افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز نشان‌دهنده حذف به موقع گونه‌های اکسیژن فعال و کاهش تنش اکسیداتیو است که با گزارشات سایر محققان مطابقت دارد (Mittler, 2017; Shaban et al., 2018). افزایش فعالیت پلی‌فنول‌اکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز نیز نشان‌دهنده فعال‌سازی مسیر فنیل‌پروپانوئید و تولید ترکیبات فنلی و لیگنین است که علاوه بر ایجاد سد فیزیکی در برابر گسترش قارچ، به عنوان متابولیت‌های ثانویه ضدقارچی عمل می‌کنند (Xu et al., 2011; Hatfield & Fukushima, 2005).

در این پژوهش، افزایش معنی‌دار محتوای پروتئین کل برگ‌ها پس از آلودگی با *V. dahliae* به ویژه در ارقام نسبتاً مقاوم GW22-1513، GW22-1361 و Ashor مشاهده شد، که می‌تواند ناشی از فعال‌سازی مسیرهای دفاعی و سنتز پروتئین‌های مرتبط با مقاومت در گیاه میزبان باشد. نتایج این پژوهش با مشاهدات Xu et al. (2019) و Shaban et al. (2018) مطابقت دارد که نشان می‌دهند افزایش پروتئین‌های دفاعی و آنزیم‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو، نقش مهمی در پاسخ گیاه میزبان به عوامل بیماری‌زا دارد. علاوه بر این، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز و گایاکول پراکسیداز) و دفاعی (پلی‌فنول‌اکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز) در ارقام نسبتاً مقاوم به طور قابل توجهی افزایش یافت و بیشینه فعالیت آن‌ها با تأخیر کمتر نسبت به ارقام حساس Varamin، PM39 و Erguven مشاهده شد. این الگو نشان‌دهنده پاسخ سریع، هماهنگ و کارآمد سیستم دفاعی در ارقام نسبتاً مقاوم است و با گزارش‌های Zhang et al. (2024a) و Xu et al. (2011) مطابقت دارد، که بیان کردند افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و دفاعی با کاهش شدت بیماری و محافظت از سلول‌های گیاهی در برابر استرس اکسیداتیو مرتبط است. این نتایج نشان می‌دهند که ارقام پنبه مورد بررسی سطوح متفاوتی از مقاومت پایه نسبت به *V. dahliae* دارند، که با گزارش‌های سایر محققان در خصوص تنوع ژنتیکی و تفاوت‌های ژنوتیپی ارقام پنبه در مقاومت به این بیماری مطابقت دارد (Li et al., 2017; Li et al., 2019).

فعالیت بالای آنزیم‌های فنیل‌آلانین آمونیالیاز و پلی‌فنول‌اکسیداز در ارقام مقاوم نشان‌دهنده فعال‌سازی مسیر فنیل‌پروپانوئید و توان بالای گسیاه در سنتز لیگنین و ترکیبات فنلی است، که به‌عنوان یکی از سازوکارهای اصلی مقاومت پایه علیه *V. dahliae* شناخته می‌شود. تجمع لیگنین و ترکیبات فنلی در ارقام مقاوم سریع‌تر و در سطوح بالاتری مشاهده شد و نشان داد که ترکیب دفاع فیزیکی و شیمیایی نقش محوری در مقاومت گیاه دارد. در ارقام نسبتاً مقاوم، تجمع فنل‌ها و میزان لیگنین با شیب تندتری افزایش یافته و در روز نهم پس از آلودگی به بیشینه رسید، در حالی که ارقام حساس به حداکثر تجمع تا روز دوازدهم دست یافتند و سطح کلی آن‌ها کمتر بود. این پاسخ سریع و شدید در ارقام ارقام نسبتاً مقاوم GW22-1513، GW22-1361 و Ashor با مشاهدات سایر محققان مطابقت دارد (Hatfield & Fukushima, 2005; Xu et al., 2011; Shaban et al., 2018) و نشان‌دهنده نقش مهم ترکیبات فنلی و لیگنین در کاهش اثرات بیماری است.

با مقایسه یافته‌های این پژوهش با تحقیقات سایر محققان می‌توان مشاهده کرد که پاسخ گیاه به قارچ عامل بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی یک فرآیند چندسطحی است که تحت تأثیر ژنتیک میزبان، شرایط محیطی و تراکم زادمایه قارچ قرار دارد. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و دفاعی عمدتاً در مراحل اولیه رشد گزارش شده است و تفاوت‌های جزئی در زمان رسیدن به بیشینه فعالیت آنزیم‌ها احتمالاً ناشی از تنوع ژنوتیپی ارقام و تأثیر شرایط محیطی است (Zhang et al., 2024a; Safdar et al., 2024) که با مشاهدات این پژوهش مطابقت دارد.

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که مقاومت نسبی ارقام پنبه در برابر بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی ناشی از تعامل پیچیده و هماهنگ میان سازوکارهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه میزبان است. افزایش تدریجی تراکم جمعیت قارچ *V. dahliae* در خاک و پیشروی آن در آوندهای چوبی، انتقال آب و مواد مغذّی را محدود کرده و در نتیجه صفات رشدی و عملکرد گیاه به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. با این حال، ارقام نسبتاً مقاوم GW22-1513، GW22-1361 و Ashor توانستند با حفظ شاخص‌های زراعی، اثرات منفی بیماری را به حداقل برسانند. این مقاومت با فعال‌سازی سریع و هماهنگ پاسخ‌های دفاعی شامل افزایش پروتئین برگ‌ها، ارتقای فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و دفاعی و تجمع سریع ترکیبات فنلی و لیگنین همراه بود. یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که ارزیابی همزمان شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی می‌تواند به‌عنوان مجموعه‌ای از شاخص‌های کارآمد برای شناسایی و گزینش ارقام مقاوم مورد استفاده قرار گیرد و ارقامی که توانایی حفظ عملکرد رشدی و فعال‌سازی سریع پاسخ‌های دفاعی را دارند، می‌توانند به‌عنوان محور اصلی برنامه‌های به‌نژادی و مدیریتی برای کاهش خسارت اقتصادی ناشی از بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی و افزایش بهره‌وری پنبه در مناطق آلوده به‌کار گرفته شوند.

سپاس‌گزاری

این پژوهش بخشی از پروژه مشترک (کد مصوب ۰۳-۰۸-۰۸۰۸۰۷-۰۰۷-۰۴۰۵۲۳) و با همکاری مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال و مؤسسه تحقیقات پنبه کشور انجام شده است. نگارندگان مراتب قدردانی و سپاس صمیمانه خود را از حمایت‌های علمی، فنی و مالی ارزشمند این مؤسسات اعلام می‌دارند.

References

Aini, N., Jibril, A. N., Liu, S., Pan, Z., Zhu, L., & Nie, X. (2022). Advances and prospects of genetic mapping of Verticillium wilt resistance in cotton. *Journal of Cotton Research, 5*, 5. https://doi.org/10.1186/s42397-021-00109-0

Ainsworth, E. A., & Gillespie, K. M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–ciocalteu reagent. *Nature Protocols, 2*, 875-877. https://doi.org/10.1038/nprot.2007.102

Akar, H., Cat, A., & Catal, M. (2024). Molecular characterizations of *Verticillium dahliae* isolates from grafted tomatoes grown in Antalya province of Türkiye. *Journal of Phytopathology, 172*, e13262. https://doi.org/10.1111/jph.13262

Amini, J. 2015. Investigating the control of potato Verticillium wilt by Basamid granulate in vitro and greenhouse conditions. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 38*, 13-22. https://doi.org/10.22055/ppr.2015.11393

Anonymous. (2025). *Agricultural statistics for the crop year 1402-1403. Volume 1: Crops. Information and communication technology center, Department of economy and planning publication*. Ministry of Agriculture, 120 pp.

Arabsalmani, M. (2014). Epidemiology of Verticillium wilt of cotton: pathogenicity variation among isolates *Verticillium dahliae*. *Iranian Journal of Cotton Researches, 2*, 59–73. https://doi.org/10.22092/ijcr.2015.102033

Arabsalmani, M., Ghagarii, A., & Yousefi, M. (2014). The effect of crop rotation on Verticillium wilt and agronomical & non-agronomical characters of cotton (*Gossypium hirsutum*). *Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi), 111*, 19–26.

Arabsalmani, M., Okhovat, S. M., Sharifitherani, A., & Nikkhah, M. J. (2011). Epidemiology of Verticillium wilt of cotton in golestan provience: effect of Verticillium wilt on quantitative and qualitative characters of cotton on yield. *Iranian Journal of Plant Pathology, 47*, 1–18.

Aydoğdu, M., Durmuş Çetin, M., Velioğlu, S.K., & Kurbetli, İ. (2025). Phenotypic characterization of advanced cotton lines for resistance to defoliating pathotype of *Verticillium dahliae*. *Crop Protection, 187*, 107000. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2024.107000

Ayele, A. G., Wheeler, T. A., & Dever, J. K. (2020). Impacts of Verticillium wilt on photosynthesis rate, lint production, and fiber quality of greenhouse-grown cotton (*Gossypium hirsutum*). *Plants, 9*, 857. https://doi.org/10.3390/plants9070857

Back, M. A., Haydock, P. P. J., & Jenkinson, P. (2002). Disease involving plant parasitic nematodes and soilborn pathogens. *Plant Pathology, 51*, 683–697. https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2002.00785.x

Barnett, H. L., & Hunter, B. B. (1998). *Illustrated genera of Imperfect fungi*. 4th edition. APS Press. 218 pp.

Bayat Tork, D., Panjehkeh, N., Alizadeh, H., Razi-Nataj, M., & Fatemi, S. M. (2021). Selection of genotypes susceptible to Verticillium wilts cotton using morphological and physiological characteristics in greenhouse conditions. *Journal of Crop Breeding, 13*, 181–191. https://doi.org/10.52547/jcb.13.40.181 (In Persian with English Abstract)

Bell, A. A. (1992). *Verticillium wilt*. In Hillocks, R.J. (Ed.), Cotton diseases (pp. 87–126). Wallingford, UK: CAB Internationa.

Bhat, R. G., & Subbarao, K. V. (1999). Host range specificity in *Verticillium dahliae*. *European Journal of Phytopathology, 89*, 1218–1225. https://doi.org/10.1094/PHYTO.1999.89.12.1218

Bolek, Y., El-Zik, K. M., Pepper, A. E., Bell, A. A., Magill, C. W., Thaxton, P. M., & Reddy, O. U. K. (2005). Mapping of Verticillium wilt resistance genes in cotton. *Plant Science, 16*8, 1581–1590. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.02.008

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry, 72*, 248–254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3

Çelik, S., Erdoğan, O., & Bardak, A. (2023). Determination of susceptibility of some cotton genotypes (Gossypium spp.) against *Verticillium dahliae* Kleb. *Fresenius Environmental Bulletin, 31,* 2408-2414.

Chen, B., Li, S. K., Wang, K. R., Wang, J., Wang, F. Y., Xiae, C. H., Lai, J. C., & Wang, N. (2008). Spectrum characteristics of cotton canopy infected with Verticillium wilt and applications. *Agricultural Sciences in China, 7,* 561–569. https://doi.org/10.1016/S1671-2927(08)60053-X

Dhingra, O. D., & Sinclair, J. B. (1986). *Basic plant pathology methods*. C.R.C Press. Inc, 355p.

Dong, M., Wang, Y., Wang, S., Feng, G., Zhang, Q. Lin, Y., Liang, Q., Wang, Y., & Qi, H. (2023). Restructuring tilth layers can change the microbial community structure and affect the occurrence of Verticillium wilt in cotton field. *Phyton-International Journal of Experimental Botany, 92,* 2841–2860. https://doi.org/10.32604/phyton.2023.030465

Dubery, I., & Smit, F. (1994). Phenylalanine ammonia-lyase from cotton (*Gossypium hirsutum*) hypocotyls properties of the enzyme induced by a *Verticillium dahliae* phytotoxin. *Biochimica et Biophysica Acta, 1207,* 24–30. https://doi.org/10.1016/0167-4838(94)90047-7

Fang, D. D., Jenkins, J. N., Deng, D. D., McCarty, J. C., Li, P., & Wu, J. (2014). Quantitative trait loci analysis of fiber quality traits using a random-mated recombinant inbred population in Upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *BMC Genomics, 15,* 397. https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-397

FAOSTAT. (2026). FAOSTAT Database. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Statistics Division. Retrieved February 26, 2026. From https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCinfo

Farrokhzadeh, H., Moravej, G., & Karimi, J. (2025). Analysis of phytohormone-related gene expression in cotton following *Beauveria bassiana* GHA endophytic association. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 48,* 1-15. https://doi.org/10.22055/ppr.2025.50206.1821

Farzin, M., & Mousavi Jorf, S. A. (2013). Isolation, identification and pathogenicity of fungal agents associated with root and crown olive trees in Khuzestan province. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 36,* 81-96.

Fradin, E. F., & Thomma, B. P. (2006). Physiology and molecular aspects of Verticillium wilt diseases caused by *V. dahliae* and *V. albo-atrum*. *Molecular Plant Pathology, 7,* 71–86. https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00323.x

Göre, M. E., Erdoğan, O., Altin, N., Aydın, M. H., Caner, Ö. K., Filizer, F., & Büyükdöğerlioğlu, A. (2011). Seed transmission of Verticillium wilt of cotton. *Phytoparasitica, 39,* 285–292. https://doi.org/10.1007/s12600-011-0163-7

Goud, J. K. C., Termorshuizen, A. J., & Gams, W. (2003). Morphology of *Verticillium dahliae* and V. tricorpus on semi-selective media used for the detection of *V. dahliae* in soil. *Mycological Research, 107,* 822–830. https://doi.org/10.1017/S0953756203008050

Hamidi, A., Fathi Sadabadi, M., Zangi, M. R., Jazaieri Noosh Abadi, M. R., Sharafizad, M., Najafian Fakhrai, M., Alishah, O., Nattaj Aghamahali, M. R., Vanda, M., & Hamid, R. (2024).

Evaluation of seed cotton yield, its components, earliness, fiber quality and morphological characteristics distinctness, uniformity and stability of three Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) new introducing tolerant to salinity hybrid genotypes. *Iranian Journal Cotton Researches*, *12*, 41–60. https://doi.org/10.22092/ijcr.2024.366840.1224

Hatfield, R., & Fukushima, R. S. (2005). Can lignin be accurately measured? *Crop Science*, *45*, 832–839. https://doi.org/10.2135/cropsci2004.0238

Hilloks, R. J. (1992). *Cotton Diseases*. C.A.B. International, Wallingford, UK, 415pp.

Inderbitzin, P., Bostock, R. M., Davis, R. M., Usami, T., Platt, H. W., & Subbarao, K. V. (2011). Phylogenetics and taxonomy of the fungal vascular wilt pathogen *Verticillium*, with the descriptions of five new species. *PLoS One*, *6*, e28341. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028341

Jafary, H., Khanmohammadi, S., & Mehri, N. (2014). Detection of pathotypes of *Verticillium dahliae*, the causal agent of olive Verticillium wilt in olive orchards of Tarom using Nested-PCR technique. *Journal of Applied Research in Plant Protection, 2*, 47-58.

Kamburova, V., Salakhutdinov, I., & Abdurakhmonov I. (2022). Cotton breeding in the view of abiotic and biotic stresses: challenges and perspectives. *IntechOpen*. https://doi.org/10.5772/intechopen.104761

Klosterman, S. J., Atallah, Z. K., Vallad, G. E., & Subbarao, K. V. (2009). Diversity, pathogenicity, and management of *Verticillium* species. *Annual Review of Phytopathology*, *47*, 39–62. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081748

Khanmohammadi, S., Jafary, H., Salari, M., & Javadi, M. (2015). Quantitative measurment of *Verticillium dahliae* in roots of four olive cultivars using Real-time PCR. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, *38*, 61-73. https://doi.org/10.1146/10.22055/ppr.2015.11229

Li, F., Fan, G., Wang, K., Sun, F., Yuan, Y., Song, G., Li, Q., Ma, Z., Lu, C., Zou, C., Chen, W., Liang, X., Shang, H., Liu, W., Shi, C., Xiao, G., Gou, C., Ye, W., Xu, X., Zhang, X., Wei, H., Li, Z., Zhang, G., Wang, J., Liu, K., Kohel, R. J., Percy, R. G., Yu, J. Z., Zhu, Y. X., Wang, J., & Yu, S. (2014). Genome sequence of the cultivated cotton *Gossypium arboretum*. *Nature Genetics, 46*, 567–572. https://doi.org/10.1038/ng.2987

Li, P. T., Rashid, M. H. O., Chen, T. T., Lu, Q. W., Ge, Q., Gong, W. K., Liu, A. Y., Gong, J. W., Shang, H. H., Deng, X. Y., Li, J. W., Li, S. Q., Xiao, X. H., Liu, R. X., Zhang, Q., Duan, L., Zou, X. Y., Zhang, Z., Jiang, X., Zhang, Y., Peng, R. H., Shi, Y. Z., & Yuan, Y. L. (2019). Transcriptomic and biochemical analysis of upland cotton (*Gossypium hirsutum*) and a chromosome segment substitution line from *G. hirsutum* × *G. barbadense* in response to *Verticillium dahliae* infection. *BMC Plant Biology, 19*, 19. https://doi.org/10.1186/s12870-018-1619-4

Li, T., Ma, X., Li, N., Zhou, L., Liu, Z., Han, H., Gui, Y., Bao, Y., Chen, J., & Dai, X. (2017). Genome-wide association study discovered candidate genes of Verticillium wilt resistance in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Plant Biotechnology Journal*, *15*, 1520–1532. https://doi.org/10.1111/pbi.12734

Li, X., Liang, Z., Yang, G., Lin, T., & Liu, B. (2024). Assessing the severity of Verticillium wilt in cotton fields and constructing pesticide application prescription maps using unmanned aerial vehicle (UAV) multispectral images. *Drones, 8*, 176. https://doi.org/10.3390/drones8050176

Mercado-Blanco, J., Rodrıguez-Jurado, D., Perez-Artes, E. and Jimenez-Dıaz, R.M., (2002). Detection of the defoliating pathotype of *Verticillium dahliae* in infected olive plants by Nested-PCR. European Journal of Plant Pathology 108, 1-13.

Mittler, R. (2017). ROS are good. *Trends in Plant Science, 22*, 11–19. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002

Nurimanguli, A., Abdulaziz Nuhu, J., Shiming, L., Peng, H., Zhenyuan, P., Longfu, Z., & Xinhui, N. (2022). Advances and prospects of genetic mapping of Verticillium wilt resistance in cotton. *Journal of Cotton Research, 5*, 5. https://doi.org/10.1186/s42397-021-00109-0

Pegg, G. F., & Brady, B. L. (2002). *Verticillium wilts*. Wallingford, UK: CABI Publishing. https://doi.org/10.1079/9780851995298.0000

Rehman, A., Mustafa, N., Du, X., & Tehseen, A. M. (2020). Heritability and correlation analysis of morphological and yield traits in genetically modified cotton. *Journal of Cotton Research, 3*, 23. https://doi.org/10.1186/s42397-020-00067-z

Safdar, A., Hameed, A., & Hassan, H. M. (2024). Biochemical and morpho-physiological insights revealed low moisture stress adaptation mechanisms in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Scientific Reports, 14*, 25942. https://doi.org/10.1038/s41598-024-77204-0

Sanei, S. J., Razavi, S. E., & Lotfalinezhad, E. (2013). Epidemiology of cotton Verticillium wilts in Golestan province, the North of Iran. *Annual Research & Review in Biology, 3*, 564–573.

Shaban, M., Miao, Y., Ullah, A., Khan, A. Q., Menghwar, H., Khan, A. H., Ahmed, M. M., Tabassum, M. A., & Zhu, L. (2018). Physiological and molecular mechanism of defense in cotton against *Verticillium dahliae*. *Plant Physiology and Biochemistry, 125*, 193–204. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.02.011

Shabani, F., & Jamali, A.H. (2017). Effects of three different compost types on Verticillium wilt (*Gossypium hirsutum* L.) of cotton under greenhouse conditions. *Journal of Applied Researches in Plant Protection, 6*, 41–52.

Singleton, L. L., Mihail, J. D., & Rush, C. M. (1992). *Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi*. APS Press, 265 pp.

Song, R., Li, J., Xie, C., Jian, W., & Yang, X. (2020). An overview of the molecular genetics of plant resistance to the Verticillium wilt pathogen *Verticillium dahliae*. *International Journal of Molecular Sciences, 21*, 1120. https://doi.org/10.3390/ijms21031120

Wang, L., Yang, Y., Qin, J., Ma, Q., Qiao, K., Fan, S., & Qu, Y. (2025). Integrative *GWAS* and transcriptomics reveal *GhAMT2* as a key regulator of cotton resistance to Verticillium wilt. *Frontiers in Plant Science, 16*, 1563466. https://doi.org/10.3389/fpls.2025.1563466

Wei, F., Fan, R., Dong, H., Shang, W., Xu, X., Zhu, H., Yang, J., & Hu, X. (2015). Threshold microsclerotial inoculum for cotton Verticillium wilt determined through wet-sieving and real-time quantitative PCR. *Phytopathology, 105*, 220–229. https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-14-0139-R

Wheeler, T. A., & Woodward, J. E. (2016). Field assessment of commercial cotton cultivars for Verticillium wilt resistance and yield. *Crop Protection, 88*, 1–6. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.05.006

Xu, J., Zhou, T., Wang, Y., Yang, Y., Pu, Y., Chen, Q., Zheng, K., & Sun, G. (2024). Functional analysis of the *GhIQD1* gene in cotton resistance to Verticillium wilt. *Plants, 13*, 1005. https://doi.org/10.3390/plants13071005

Xu, L., Zhu, L., Tu, L., Liu, L., Yuan, D., Jin, L., Long, L., & Zhang, X. (2011). Lignin metabolism has a central role in the resistance of cotton to the wilt fungus *Verticillium dahliae* as revealed by RNA-Seq-dependent transcriptional analysis and histochemistry. *Journal of Experimental Botany*, *62*, 5607–5621. https://doi.org/10.1093/jxb/err245

Yang, J., Zhang, Y., Wang, X., Wang, W., Li, Z., Wu, J., Wang, G., Wu, L., Zhang, G., & Ma, Z. (2018). HyPRP1 performs a role in negatively regulating cotton resistance to *V. dahliae* via the thickening of cell walls and ROS accumulation. *BMC Plant Biology*, *18*, 339. https://doi.org/10.1186/s12870-018-1565-1

Yang, L., Fu, T., Sha, R. Wei, G., Shen, Y., Jiao, Z., & Li, B. (2025). Role of *Verticillium dahliae* effectors in interaction with cotton plants. *Phytopathology Research, 7*, 1. https://doi.org/10.1186/s42483-024-00288-z

Zahedi, M.R., Razavi, S.I., Sanei, S.J., & Azad, Q. (2016). Evaluation of tolerance of some cotton cultivars to Verticillium wilts disease. *Twenty-second Iranian Plant Protection Congress*, September 6-9, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj.

Zhang, D.D., Dai, X.F., Klosterman, S.J., Subbarao, K.V., & Chen, J.Y. (2022). The secretome of *Verticillium dahliae* in collusion with plant defence responses modulates Verticillium wilt symptoms. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, *97*, 1810–1822. https://doi.org/10.1111/brv.12863

Zhang, J., Jiamahate, A., Feng, H., Bozorov, T.A., Zhang, D., Guo, J., Yang, H., & Zhang, D. (2024a). Distribution and pathogenicity differentiation of physiological races of *Verticillium dahliae* from cotton stems in western China. *Pathogens, 13*, 525. https://doi.org/10.3390/pathogens13070525

Zhang, J., Sanogo, S., Flynn, R., Baral, J.B., Bajaj, S., Hughs, S., & Percy, R.G. (2012). Germplasm evaluation and transfer of Verticillium wilt resistance from Pima (*Gossypium barbadense*) to Upland cotton (*G. hirsutum*). *Euphytica, 187*, 147–160. https://doi.org/10.1007/s10681-011-0549-0

Zhang, J., Abdelraheem, A., Thyssen, G. N., Fang, D. D., Jenkins, J. N., McCarty Jr, J. C., Wedegaertner, T., & Ulloa, M. (2020a). Evaluation and genome-wide association study of Verticillium wilt resistance in a MAGIC population derived from intermating of eleven Upland cotton (*Gossypium hirsutum*) parents. *Euphytica, 216*, 9. https://doi.org/10.1007/s10681-019-2547-6

Zhang, X., Feng, Z., Zhao, L., Liu, S., Wei, F., Shi, Y., Feng, H., & Zhu, H. (2020b). Succinate dehydrogenase SDH1-1 positively regulates cotton resistance to *Verticillium dahliae* through a salicylic acid pathway. *Journal of Cotton Research*, *3*, 12. https://doi.org/10.1186/s42397-020-00052-6

Zhang, Y., Li, X., Wang, Y., Li, M., & Sun, K. (2024b). Polyethyleneimine coated MXene quantum dots improve cotton tolerance to *Verticillium dahliae* by maintaining ROS homeostasis. *Science of The Total Environment*, *912*, 168680. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.168680

Zhao, L., Feng, Z., Li, Z., Feng, H., Shi, Y., Zhang, Y., & Zhu, H. (2017). Development of an improved standard for identifying and evaluating Verticillium wilt resistance in cotton. *Cotton Science*, *29*, 50-58.

Zhao, Y., Chen, W., Cui, Y., Sang, X., Lu, J., Jing, H., Wang, W., Zhao, P., & Wang H. (2021). Detection of candidate genes and development of KASP markers for Verticillium wilt resistance by combining genome-wide association study, QTL-seq and transcriptome sequencing in cotton. *Theoretical and Applied Genetics*, *134*, 1063–1081. https://doi.org/10.1007/s00122-020-03752-4

Zhou, T.T., Zhao, Y.L., & Guo, H.S. (2017). Secretory proteins are delivered to the septin-organized penetration interface during root infection by *Verticillium dahliae*. *PLOS Pathogens*, *13*, e1006275. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006275

Zhu, D., Zhang, X., Zhou, J., Wu, Y., Zhang, X., Feng, Z., Wei, F., Zhao, L., & Zhang, Y. and Shi, Y. (2021). Genome-wide analysis of ribosomal protein *GhRPS6* and its role in cotton Verticillium wilt resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*, 1795. https://doi.org/10.3390/ijms22041795

© 2026 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/.