گیاهپزشکی (مجله علمی کشاورزی)، جلد ۴۱ شماره ۲، تابستان ۱۳۹۷

تأثیر نمک‌های سیلیسیوم بر تغییرات فیزیولوژیک باقلای آلوده به *Phytophthora pistaciae*

آمنه محمدی[۱] و رضا مستوفی‌زاده قلمفرسا[۲*]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

۲- ***نویسنده مسوول**: استاد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز (rmostofi@shirazu.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۵/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۲/۱۷

چکیده

سیلیسیوم دومین عنصر رایج در خاک است که اثرات مفیدی در افزایش تحمل به تنش‌های زنده و غیرزنده در گیاهان دارد. در این مطالعه، فعالیت درون زیوه‌ای سیلیکات سدیم و پتاسیم در مهار *Phytophthora pistaciae* مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور بررسی اثر سیلیکات سدیم و سیلیکات پتاسیم در افزایش تحمل گیاه آزمونه‌ی باقلا نسبت به *P. pistaciae*، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و اعمال سه تیمار شاهد، دریافت نمک قبل و بعد از مایه‌زنی، در سه تکرار در گلخانه اجرا شد. محتوای کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنول اکسیداز، پرولین، پروتئین کل، کربوهیدارت گیاه و همچنین اسیدیته و هدایت الکتریکی خاک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایش‌ها نشان داد که نمک‌های سیلیسیوم با افزایش آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنول اکسیداز و پروتئین کل باعث افزایش تحمل باقلا نسبت به *P. pistaciae* می‌شود و برعکس میزان پرولین کاهش می‌یابد. هیچ‌کدام از این نمک‌ها تأثیری روی میزان کربوهیدرات گیاه، pH و هدایت الکتریکی خاک نداشتند. با توجه به نتایج حاصل از این آزمایش می‌توان استنباط کرد که نقش نمک‌های سیلیسیوم در افزایش تحمل به بیماری در باقلا به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایش بوده است. این آنزیم‌ها باعث کاهش خسارت‌های اُکسایشی ناشی از گونه‌های فعال اکسیژنِ ایجاد شده تحت تنش بیمارگر می‌شوند.

***واژگان کلیدی:** اُامیکوتا، پوسیدگی ریشه، تنش زیستی، سیلیکات‌ها*

مقدمه

گونه‌های *Phytophthora* بیمارگر ویرانگر گیاهان در کشاورزی و طبیعت هستند. یکی از بیماری‌های مهمی که گونه‌های این جنس ایجاد می‌کند، انگومک یا پوسیدگی طوقه و ریشه است. افزون بر مرکبات، این بیماری در گونه‌های مختلف پسته هم مشاهده می‌شود و مهم‌ترین بیماری درختان پسته اهلی (*Pistacia vera* L.) در ایران به شمار می‌رود (Mirsoleimani and Mostowfizadeh-Ghalamfarsa, 2013). گونه‌های مختلفی از فیتوفتورا عامل ایجاد انگومک پسته هستند. یکی از عوامل مهم این بیماری، *Phytophthora pistaciae* Mirab. است که برای نخستین‌بار از استان کرمان در ایران گزارش شده است (Mirabolfathy et al., 2001). این بیمارگر علاوه بر پسته، دامنه‌ی میزبانی بالقوه‌ای روی سایر گیاهان زراعی و باغی دارد (Mirsoleimani and Mostowfizadeh-Ghalamfarsa, 2013).

روش‌های مهار بیماری‌های فیتوفتورایی متنوع‌اند و شامل بهبود خاک با استفاده از کودهای آلی مناسب

(Lazarovist et al., 2001)، مهار شیمیایی (Guest et al., 1995) و مهار زیستی می‌شوند (You et al., 1996). استفاده از نمک‌های معدنی از جمله نمک‌های آمونیوم، آلومینیوم، سدیم، پتاسیم، مس، سیلیسیوم و کلسیم از روش‌های جدید مهار بیماری‌های گیاهی و جایگزینی برای قارچ‌کش‌های مصنوعی محسوب می‌شود (Mills et al., 2004). نحوه‌ی اثرگذاری سیلیکات‌ها درکاهش بیماری-های قارچی و شبه‌قارچی مورد پژوهش قرار گرفته است (Lee *e* et al., 2004; Bekker, 2007; Mostowfizadeh-Ghalamfarsa et al., 2017). با این حال هنوز مشخص نشده که نقش سیلیکات در مهار بیماری‌های گیاهی مربوط به حفاظت‌های مکانیکی فعال یا غیرفعال یا هر دو این‌هاست (Deliopoulos et al., 2010).

استفاده از محلول سیلیکات موجب کاهش بیماری ریشه و طوقه ناشی از گونه‌های فیتوفتورا از جمله *Phytophthora capsici* Leonian در فلفل (*Capsicum frutescens* L.) و *Phytophthora cinnamomi* Rands. در آواکادو (*Persea americana* Mill.) شده است (Lee et al., 2004; Bekker, 2007). همچنین از بین غلظت‌های مختلف منابع سیلیکاتی (سیلیکات سدیم و پتاسیم)، سیلیکات پتاسیم بیش‌ترین اثر را بر ممانعت از رهاسازی زئوسپورهای *P. pistaciae* روی گیاه باقلا (میزبان بالقوه‌ی یک‌ساله‌ی بیمارگر) و ارقام مختلف پسته (میزبان چندساله‌ی بیمارگر) داشته است (Mostowfizadeh-Ghalamfarsa et al., 2017). علاوه بر اثر مستقیم نمک‌های سیلیکاتی روی بیمارگر، آزمایش‌های گلخانه‌ای نشان داده است که کاربرد نمک‌های سیلیکاتی موجب کاهش بیماری از طریق کاهش درصد استقرار در ریشه، کاهش مرگ‌ومیر گیاهان و کاهش پوسیدگی ریشه‌ی گیاه باقلا و ریشه و طوقه‌ی ارقام مختلف پسته می‌شود (Mostowfizadeh-Ghalamfarsa et al., 2017). با این حال، شیوه‌ی اثر نمک‌های سیلیسیوم بر متابولیت‌های گیاه میزبان هنوز نامشخص است. هدف از این مطالعه، بررسی اثر کاربرد نمک‌های سیلیسیوم (سیلیکات سدیم و پتاسیم) بر فیزیولوژی گیاه از طریق تغییرات در سطح برخی متابولیت‌های زیستی، به ویژه آنزیم‌های اُکسایشی ناشی از فعالیت *P. pistaciae* در گیاه آزمونه‌ی باقلا است.

مواد و روش‌ها

تهیه‌ی مایه‌ی بیمارگر

در این مطالعه از جدایه‌ی P.p24 *P. pistaciae* (پسته، رفسنجان، ۱۳۸۹) و جدایه‌ی Dov_1 از *Rhizoctonia solani* JG Kühn مربوط به گروه آناستوموزی AG4 (به عنوان بیمارگر شاهد) موجود در مجموعه‌ی بخش گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز استفاده شد (Mirsoleimani and Mostowfizadeh-Ghalamfarsa, 2013).

مایه‌ی بیماری‌زای *P. pistaciae* با استفاده از عصاره-ی شاهدانه و ورمی کولایت تهیه شد (Banihashemi and Fatehi, 1989). همچنین از *R. solani* ، بیمارگر طبیعی باقلا (Azimi et al., 2005)، به عنوان بیمارگر شاهد استفاده شد. مایه‌ی بیمارگر ریزوکتونیا با استفاده از بذر گندم تهیه گردید (Sabahi, 2013).

کاشت و تیمار باقلا

بذر باقلا رقم برکت (*Vicia faba* L. cv. Barekat) به صورت مستقیم در گلدان‌ها در مخلوط ۱:۱ خاک بکر و ماسه کاشته شد. در این آزمایش از گیاهچه‌های باقلای سه هفته‌ای استفاده شد. این گیاهان سه بار در هفته با ۲۵۰ میلی‌لیتر (ظرفیت مزرعه‌ای گلدان‌ها) آب مقطر و یک بار در هفته با آب مقطر حاوی غلظت‌های صفر، ۰/۲۵، ۰/۵۰ و

۰/۷۰ میلی‌مولار برای سیلیکات سدیم (با ۱۰ درصد سیلیسیوم) و غلظت‌های صفر، یک، دو و چهار میلی‌مولار برای سیلیکات پتاسیم (با ۱۳ درصد سیلیسیوم)، به صورت ریشه‌ای و محلول در آب تغذیه شدند (Mostowfizadeh-Ghalamfarsa et al., 2017). تیمارها شامل گیاه سالم، گیاه بیمار، گیاهان سالم تیمار شده با نمک‌های سیلیسیوم، گیاهان آلوده تیمار شده با نمک-های سیلیسیوم قبل از مایه‌زنی) و گیاهان آلوده تیمار شده با نمک‌های سیلیسیوم بعد از مایه‌زنی بود. این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و با آزمون توکی انجام شد. در مورد ریزوکتونیا تنها یک غلظت از نمک‌ها (۰/۵ میلی‌مولار سیلیکات سدیم و ۲ میلی‌مولار سیلیکات پتاسیم) مورد استفاده قرار گرفت. از این قارچ به عنوان شاهد بیماری‌زا برای اثبات نتایج فیتوفتورا استفاده شد و بهترین غلظتی که فیتوفتورا در آن مهار شده بود در این آزمایش‌ها به کار رفت.

برای آلوده‌سازی گیاه باقلا با فیتوفتورا، ابتدا خاک اطراف هر گیاه کنار زده و ۳۰ گرم از مایه‌ی قارچ تهیه شده پای گیاهان ریخته شد. پس از مایه‌زنی روی طوقه و ریشه با خاک پوشانده و بی‌درنگ گلدان‌ها به مدت ۲۴ ساعت غرقاب شدند (Banihashemi and Fatehi, 1989). برای مایه‌زنی گیاهان با ریزوکتونیا، ۳۰ گرم مایه‌ی قارچ کنار طوقه‌ی گیاهان قرار داده شد (Sabahi, 2013).

روش‌های اندازه‌گیری فاکتورهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس کاهش جذب آب اکسیژنه و با روش Dhindsa et al. (1981) انجام گرفت. برای اندازه‌گیری غلظت آنزیم پراکسیداز بر اساس میزان اکسید شدن گوایکل[1] و با روش Chance and Maehly(1955) استفاده شد. سنجش فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز با روش Ghanati et al. (2002) انجام شد. برای استخراج و اندازه‌گیری پرولین از روش Bates (1973)، برای تعیین غلظت پروتئین از روش استاندارد Bradford (1976) و اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول به روش استاندارد Dubois et al. (1956) انجام گرفت. همه‌ی اندازه‌گیری‌ها از شاخساره گیاه باقلا انجام شد.

نتایج و بحث

به منظور بررسی اثر کاربرد نمک‌های سیلیسیوم (سیلیکات سدیم و پتاسیم) بر فیزیولوژی گیاه باقلا، محتوای کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنول اکسیداز، پرولین، پروتئین کل و کربوهیدارت گیاه و همچنین pH و هدایت الکتریکی خاک گیاهان باقلای آلوده با *P. pistaciae* در مقایسه با گیاهان شاهد مورد بررسی قرار گرفت. واکنش سطوح آنزیم‌های بررسی شده به تیمارهای سیلیسیوم متفاوت بود و این موضوع در ادامه مورد بحث قرار می‌گیرد.

کاتالاز

مقدار آنزیم کاتالاز در گیاهان بیماری که توسط *P. pistaciae* مایه‌زنی شده و هیچ‌گونه نمکی دریافت نکرده بودند نسبت به گیاهان سالم بدون نمک به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد. مقدار این آنزیم در گیاهان بیماری که با غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۷ میلی‌مولار سیلیکات سدیم و غلظت‌های دو و چهار میلی‌مولار سیلیکات پتاسیم تیمار شده بودند به صورت معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد بیماری که نمک دریافت نکرده بودند، افزایش یافت (شکل ۱).

کاتالاز می‌تواند سطح پراکسید هیدروژن را در سلول گیاهی مهار کند (Khelifa et al., 2011). یافته‌های این تحقیق نشان داد که در گیاهان بیمار ده روز بعد از مایه‌زنی توسط *P. pistaciae* میزان کاتالاز به شکل معنی‌داری افزایش پیدا کرده است. طبق نظر Bolwell et al.

[1] guaiacol

(2002)، گونه‌های اکسیژن فعال در پاسخ به حمله‌ی بیمارگرها به سرعت در گیاه تولید می‌شود. برای از بین بردن گونه‌های اکسیژن فعال همچون پراکسید هیدروژن، در هنگام حمله‌ی بیمارگرها آنزیم کاتالاز افزایش می‌یابد (Samuel et al., 1991; Cherif et al., 1994). در پژوهشی Blackman and Hardham (2008) نشان دادند که میزان کاتالاز در گیاهان تنباکو آلوده به *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan. به مقدار قابل توجهی افزایش می‌یابد. تیمار نمک‌های سیلیسیوم در خیار آلوده به *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp نیز موجب افزایش کاتالاز نسبت به شاهد شده است (Chakani, 2013). آزمایش حاضر نشان داد که تیمار سیلیکات سدیم و سیلسکات پتاسیم تولید آنزیم کاتالاز را به صورت قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌دهد.

کاربرد نمک‌های سیلیکاتی قبل و بعد از مایه‌زنی خاک سترون با *P. pistaciae* باعث کاهش معنی‌دار بیماری اکثر گیاهان باقلا و ارقام مختلف پسته در مقایسه با شاهد سالم شده است (Mostowfizadeh-Ghalamfarsa et al., 2017)، بنابراین احتمال دخالت افزایش سطح کاتالاز در کاهش مرگ‌ومیر گیاهان آلوده وجود دارد. کاتالاز می‌تواند بدون نیاز به عامل احیا کننده، پراکسید هیدروژن موجود در سلول را به آب و اکسیژن تبدیل کرده، به این ترتیب از بروز صدمات اُکسایشی در گیاه ممانعت به عمل آورد.

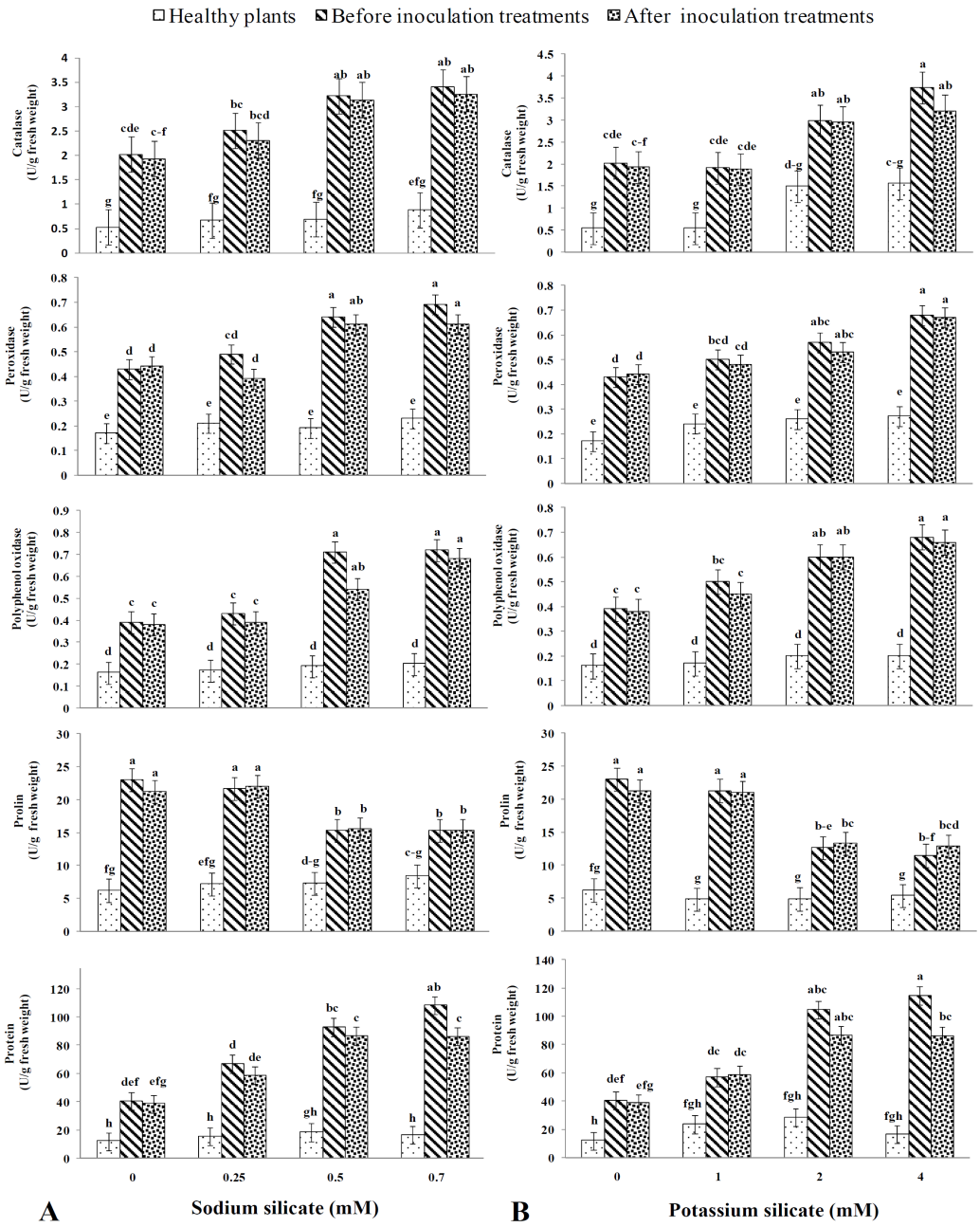
پراکسیداز

مقدار آنزیم پراکسیداز در گیاهان بیماری که هیچ‌گونه نمکی دریافت نکرده بودند نسبت به گیاهان سالم بدون نمک به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد. مقدار این آنزیم در گیاهان بیماری که با غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۷ میلی-مولار سیلیکات سدیم و غلظت‌های دو و چهار میلی‌مولار سیلیکات پتاسیم تیمار شده بودند به صورت معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد بیماری که نمک دریافت نکرده بودند، افزایش یافت (شکل ۱).

فعالیت پراکسیداز با مقاومت در برابر بیماری در گیاهان مرتبط است (Hammerschmidt and Kuć, 1982) و این آنزیم بیش‌ترین سهم را برای مقاومت به تنش در اثر حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاهان بر عهده دارند (Bergmann et al., 1999). دخالت آنزیم پراکسیداز در واکنش‌های دفاعی (Macko et al., 1968) و اثر بازدارنگی پراکسیداز روی رشد عوامل بیماری‌زا (Lehrer, 1969) اثبات شده است. مطالعات نشان داده است که تیمار سیلیسیوم موجب افزایش آنزیم پراکسیداز می‌شود (Kurabachew, 2015). ارزیابی فعالیت پراکسیداز در مطالعه‌ی حاضر نشان داد که هر دو جدایه‌ی قارچ ریزوکتونیا و فیتوفتورا به تنهایی باعث افزایش فعالیت این آنزیم و در نتیجه احتمالاً موجب القای مقاومت در گیاه باقلا می‌شوند. اما میزان این آنزیم از نظر آماری در تیمار سیلیکات سدیم و سیلیکات پتاسیم و بیمارگر به صورت توأم نسبت به زمان وجود بیمارگر به تنهایی، از میزان بالاتری برخوردار بود و احتمالاً از این طریق می‌تواند در کاهش مرگ‌ومیر ناشی از بیمارگر اثر داشته باشد.

پلی‌فنول اکسیداز

مقدار آنزیم پلی‌فنول اکسیداز در گیاهان بیماری که هیچ‌گونه نمکی دریافت نکرده بودند نسبت به گیاهان سالم بدون نمک به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد. مقدار این آنزیم در گیاهان بیماری که با غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۷ میلی‌مولار سیلیکات سدیم و غلظت‌های دو و چهار میلی‌مولار سیلیکات پتاسیم تیمار شده بودند به صورت معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد بیماری که نمک دریافت نکرده بودند، افزایش یافت (شکل ۱).



شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف سیلیکات سدیم (A) و سیلیکات پتاسیم (B) بر تغییرات فیزیولوژیک باقلای مایه‌زنی شده با *Phytophthora pistaciae*، در تیمارهای قبل و بعد از مایه‌زنی در مقایسه با گیاهان سالم در شرایط گلخانه ده روز پس از مایه‌زنی. حروف نامتشابه نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون توکی است.

Fig. 1. The effect of different concentration of sodium silicate (A) and potassium silicate (B) on physiological changes in broad bean before and after inoculation with *Phytophthora pistaciae* compared with uninoculated plants in greenhouse ten days after inoculation. Mean values at the column peaks followed by the same letter are not significantly different at $P \leq 0.05$ by Tukey's test.

مقدار آنزیم پلی‌فنول اکسیداز در گیاهان بیماری که توسط *P. pistaciae* و *R. solani* مایه‌زنی شده و هیچ‌گونه نمکی دریافت نکرده بودند نسبت به گیاهان سالم بدون نمک به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد. تیمار خیار آلوده به *Pythium ultimum* و *Py. aphanidermatum* با سیلیسیوم نیز باعث فعال‌سازی ساز وکار دفاعی از طریق افزایش فعالیت پلی‌فنول اکسیداز شده است (Cherif et al., 1994). میزان آنزیم پلی‌فنول اکسیداز در گیاهان خیار سالم تیمار شده با نمک و گیاهان سالمی که نمک دریافت نکرده بودند، تفاوتی نداشت. اما تفاوت بین گیاهان مایه‌زنی شده و مایه‌زنی نشده مشاهده شد که با مطالعه‌ی ما مطابقت دارد. القای فعالیت پلی‌فنول اکسیداز به واسطه‌ی حمله‌ی بیمارگرها در سایر گیاهان تک‌لپه‌ای و دولپه‌ای نیز گزارش شده است (Chen et al., 2000). در تحقیق حاضر میزان پلی‌فنول اکسیداز در حضور بیمارگر و پس از تیمار با سیلیکات سدیم و سیلیکات پتاسیم به صورت معنی‌داری افزایش یافت. ارتباط بین افزایش آنزیم‌های دفاعی و مقاومت بیش‌تر به عوامل بیماری‌زا توسط محققان دیگر نیز گزارش شده است (Raj et al., 2006; Van Loon, 2007). مقایسه‌ی میزان فعالیت پلی‌فنول اکسیداز در گیاهان بیمار بدون تیمار نمک و گیاهان بیماری که با نمک‌های سیلیکات سدیم و سیلیکات پتاسیم تیمار شده بودند، اختلاف قابل توجهی را نشان داد. پلی‌فنول اکسیداز سبب اکسید شدن پلی‌فنول‌ها به کینون‌ها (ترکیبات ضد میکروبی) و لیگنینی شدن دیواره سلولی گیاهی طی آلودگی میکروبی می‌شود. همچنین در واکنش تدافعی و فوق حساسیت که سبب مقاومت به قارچ می‌شود، شرکت دارد (Kosuge, 1969).

اسید آمینه‌ی پرولین

مقدار اسید آمینه‌ی پرولین در گیاهان بیماری که هیچ‌گونه نمکی دریافت نکرده بودند نسبت به گیاهان سالم بدون نمک به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد. مقدار این اسید آمینه در گیاهان بیماری که با غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۷ میلی‌مولار سیلیکات سدیم و غلظت‌های دو و جهار میلی‌مولار سیلیکات پتاسیم تیمار شده بودند به صورت معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد بیماری که نمک دریافت نکرده بودند، کاهش یافت (شکل ۱). از آن‌جایی که مقدار پرولین در گیاه به عنوان یک شاخص مقاومت محسوب می‌شود می‌توان گفت که در تیمارهای که مقدار این آمینواسید کاهش پیدا کرده، تنش هم کم‌تر شده است. نتایج این آزمایش نشان داد که در گیاهان بیماری که هیچ‌گونه نمکی دریافت نکرده‌اند نسبت به گیاهان سالم بدون نمک مقدار پرولین به صورت معنی‌داری افزایش یافته است. بررسی‌های زیادی نشان داده است که میزان پرولین برگ در گیاهان عالی در پاسخ به تنش‌های زیستی افزایش می‌یابد (Fabro et al., 2004; Haudecoeura et al., 2009). پرولین در بسیاری از گیاهان در اثر شرایط مختلف تنش‌های محیطی مانند کمبود آب، شوری، دمای زیاد و شدت نور تجمع پیدا می کند (Claussen, 2005). هر عاملی که باعث کاهش پتانسیل آبی شود، باعث تجمع پرولین می‌گردد (Kuznetsov and Shevyakova, 1999). مثلاً مقدار پرولین در برگ گوجه‌فرنگی آلوده به *P. nicotiana* افزایش می‌یابد (Grote et al., 2006). اما نتایج آزمایش ما نشان داد که گیاهان بیماری که نمک دریافت کرده‌اند در مقایسه با گیاهان بیمار بدون نمک مقدار پرولین به صورت معنی‌داری کاهش پیدا کرد. کاهش پرولین در اثر تیمار سیلیسیوم توسط برخی دیگر از پژوهشگران نیز گزارش شده است (Kaya et al., 2006; Tuna et al., 2008). احتمالاً دلیل کاهش پرولین این است که سیلیسیوم، تنش ناشی از سیستم آنتی‌اکسیدانی را در گیاه کاهش می‌دهد.

پروتئین کل

مقدار پروتئین کل در گیاهان بیماری که هیچ‌گونه نمکی دریافت نکرده بودند نسبت به گیاهان سالم بدون نمک به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد. مقدار پروتئین کل در گیاهان بیماری که با غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۷ میلی‌مولار سیلیکات سدیم و غلظت‌های دو و چهار میلی-مولار سیلیکات پتاسیم تیمار شده بودند به صورت معنی-داری نسبت به گیاهان شاهد بیماری که نمک دریافت نکرده بودند، افزایش یافت (شکل ۱). پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی در اثر حمله‌ی بیمارگر یا تغذیه‌ی حشرات، زخم، تنش‌های محیطی و هورمون‌هایی مانند اتیلن و اسید سالیسیلیک در گیاه پدید می‌آیند و در مقاومت علیه بیمارگرها نقش دارند (Silva et al., 2004). از طرفی سیلیسیوم در القای مولکول‌های زیستی مانند پروتئین‌ها دخالت دارد (Bekker, 2007). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که پروتئین کل در گیاهان بیماری که توسط *P. pistaciae* مایه‌زنی شده بودند و هیچ‌گونه نمکی دریافت نکرده‌اند نسبت به گیاهان سالم بدون نمک به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرده است. افزایش میزان پروتئین در گیاهان تنش دیده نسبت به شاهد می‌تواند به این علت باشد که گیاهان با تولید پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌های گیاهی و پروتئین‌های دیگر به تنش‌های زیستی پاسخ می‌دهند (Veeranagamallaiah et al., 2008). نتایج این آزمایش نشان داد که تیمار سیلیسیوم در گیاهان بیمار باعث افزایش معنی‌دار مقدار پروتئین کل در مقایسه با گیاهان بیماری بود که سیلیسیوم دریافت نکرده بودند.

کربوهیدرات

نتایج این آزمایش نشان داد که مقدار کربوهیدرات در گیاهان بیماری که هیچ‌گونه نمکی دریافت نکرده بودند نسبت به گیاهان سالم بدون نمک به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد. اما تفاوت معنی‌داری بین سایر تیمارها مشاهده نشد. این احتمال وجود دارد که یون سیلیسیوم هیچ‌گونه تأثیری در تولید کربوهیدرات نداشته است. مقدار کربوهیدرات در بافت آواکادو آلوده به *P. cinnamomi* نیز افزایش یافت (Bishop et al., 2002). همچنین در باقلا آلوده شده توسط *Colletotrichum lindemuthianum* (Sass and Magnus) Briosi and Cavara. مقدار کربوهیدرات کل افزایش پیدا کرد (Lobato et al., 2009) که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد.

ویژگی‌های خاک

نتایج این آزمایش نشان داد مقدار pH خاک مایه‌زنی شده با *P. pistaciae* (با دامنه‌ی ۷/۰۶ تا ۸/۶۰) بین تیمارهای مختلف نمک‌های سیلیکات سدیم و پتاسیم تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین هدایت الکتریکی این خاک (با دامنه‌ی ۰/۷۲ تا ۱/۰۱ دسی‌زیمنس) بین تیمارهای مختلف نمک‌های سیلیکات سدیم و پتاسیم تفاوت معنی‌داری نشان نداد. نتایج به دست آمده با نتایج Mostowfizadeh-Ghalamfarsa et al. (2017) مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج به دست آمده از تیمارهای *R. solani*، بیمارگر طبیعی باقلا، در تمام موارد کاملاً مشابه با تیمارهای مایه‌زنی شده با *P. pistaciae* بود (داده‌ها نشان داده نشده است). به طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تیمار گیاهان تحت تنش بیماری ناشی از *P. pistaciae* و *R. solani* با نمک‌های سیلیسیوم به احتمال زیاد با افزایش بیان ژن‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز و افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اُکسایش و کاهش محتوای رادیکال‌های آزاد در سلول، مانع از خسارت اُکسایشی به سلول گیاهی می‌شود. در نتیجه‌ی این کاهش تنش، مقدار پرولین هم در گیاهان بیماری که

تیمار سیلیسیوم دریافت کرده‌اند کاهش پیدا می‌کند. همچنین سیلیسیوم باعث افزایش پروتئین کل می‌شود که در مقاومت علیه بیمارگر نقش دارد. در نتیجه یون‌های سیلیسیوم احتمالاً می‌توانند در بهبود تحمل گیاه باقلا نسبت به بیماری‌های ناشی از *P. pistaciae* و *R. solani* نقش داشته باشند.

پیشنهاد می‌شود که میزان تغییرات این متابولیت‌ها روی میزبان طبیعی و چندساله‌ی *P. pistaciae* یعنی پسته هم اندازه‌گیری شود. همچنین به نظر می‌رسد که افزون بر این متابولیت‌ها، میزان سوپراکسید دیسموتاز و مقدار فنول کل را، که از شاخص‌های واکنش به تنش‌های زیستی هستند، می‌توان اندازه‌گیری کرد. آزمون تیمار نمک‌های سیلیسیوم در محیط باغ به شکل کود شیمیایی ممکن است یافته‌های دقیق‌تری به دست دهد.

REFERENCES

Azimi, S., Farokhinezhad, R., and Mosavijaraf, A. 2005. Isolation and pathogenicity of some anastomosis groups of Rhizoctonia associated with faba bean root and crown in Khuzestan province. Iranian Journal of Plant Pathology, 41: 329-343. (In Farsi with English abstract)

Banihashemi, Z., and Fatehi, J. 1989. Reaction of cucurbit cultivars to *Phytophtora drechsler*, and *P. capsici* in greenhouse. Proceedings of the 9th Iranian Plant Protection Congress, (p. 90). Mashhad, Iran: 89.

Bates, L. S. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.

Bekker, T. F. 2007. Efficacy of water soluble silicon for control of *Phytophthora cinnamomi* root rot of avocado. Doctoral dissertation, University of Pretoria, South Africa.

Bergmann, H., Lippmann, B., Leinhos, V., Tiroke, S., and Machelett, B. 1999. Activation of stress resistance in plants and consequences for product quality. Angewandte Botanik, 73: 153-161.

Bishop, D. L., Chatterton, N. J., Harrison, P. A., and Hatfield, R. D. 2002. Changes in carbohydrate partitioning and cell wall remodelling with stress-induced pathogenesis in wheat sheets. Physiological and Plant Pathology, 61: 53-63.

Blackman, L. M., and Hardham, A. R. 2008. Regulation of catalase activity and gene expression during *Phytophthora nicotianae* development and infection of tobacco. Molecular Plant Pathology, 9(4): 495-510.

Bolwell, P., Bindschedler, L., Blee, V., Butt, A., Dwei, R., Gardner, S., Gerrish, C., and Minibayeva, F. 2002. The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a three-component system. Journal of Experimental Botany, 53: 1367-1376.

Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.

Chakani, H. 2013. Study of physiological changes in cucumber infected by *Pythium aphanidermatum* and the effect of silicon on reduction of its damage. Master's thesis, Shiraz University, Shiraz, Iran. (In Farsi with English abstract)

Chance, B., and Maehly, A. C. 1955. Assay of catalases and peroxidases. Methods in Enzymology, 11: 764-755.

Chen, C., Belanger, R. R., Benhamou, N., and Paulitz, T. C. 2000. Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*. Physiological and Molecular Plant Pathology, 56(1): 13-23.

Cherif, M., Asselin, A., and Belanger, R. 1994. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. Phytopathology, 84: 236-242.

Claussen, W. 2005. Proline as a measure of stress in tomato plants. Plant Science, 168: 241-248.

Deliopoulos, T., Kettlewell, P. S., and Hare, M. C. 2010. Fungal disease suppression by inorganic salts. Crop Protection, 29: 1059-1075.

Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P., and Thorpe, T. A. 1981. Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany, 32: 93-101.

Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry, 28: 350-356.

Fabro, G., Kovács, I., Pavet, V., Szabados, L., and Alvarez, M. E. 2004. Proline accumulation and AtP5CS2 gene activation are induced by plant-pathogen incompatible interactions in arabidopsis. The American Phytopathological Society, 17: 343-350.

Ghanati, F., Morita, A., and Yokota, H. 2002. Induction of suberin and increase of liginin content by exess Boron in Tabacco cell. Soil Science and Plant Nutrition, 48(3): 357-364.

Grote, D., Schmidt, R., and Claussen, W. 2006. Water uptake and proline index as indicators of predisposition in tomato plants to *Phytophthora nicotianae* infection as influenced by abiotic stresses. Physiological and Molecular Plant Pathology, 69: 121-130.

Guest, D. I., Pegg, K.G., and Whiley, A. W. 1995. Control of *Phytophthora* diseases of tree crops using trunk-injected phosphonates. Horticultural Reviews, 17: 299-330.

Hammerschmidt, R., and Kuć, J. 1982. Lignification as a mechanism for induced systemic resistance in cucumber. Physiological Plant Pathology, 20(1): 61-71.

Haudecoeura, E., Planamentea, S., Ciroua, A., Tannieresa, M., Shelpc, B. J., Morerab, S., and Faurea, D. 2009. Proline antagonizes GABA-induced quenching of quorum-sensing in Agrobacterium tumefaciens. Proceedings of the National Academy of Sciences, 106: 14587-14592.

Kaya, C., Tuna, L., and Higgs, D. 2006. Effect of silicon on plant growth and mineral nutrition of maize grown under water-stress conditions. Journal of Plant Nutrition, 29(8): 1469-1480.

Khelifa, S., M'Hamdi, M., Rejeb, H., Belbahri, L., and Souayeh, N. 2011. Relation between catalase activity, salt stress and urban environment in *Citrus aurantium* L. Journal of Agriculture and Forestry, 3(6): 186-189.

Kosuge, T. 1969. The role of phenolics in host response to infection. Annual Review of Phytopathology, 7(1): 195-222.

Kurabachew, H. 2015. The impact of silicon amendment on suppression of bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* in solanaceous crops. In Meghvansi, M. K. and Varma, A. (eds.) Organic amendments and soil suppressiveness in plant disease management, 1st Ed. Springer International Publishing. pp: 401-412.

Kuznetsov, V. L. V., and Shevyakova, N. I. 1999. Proline under stress: Biological role, metabolism, and regulation. Russian Journal of Plant Physiology, 46(2): 274- 286.

Lazarovist, G., Tenuta, M., and Conn, K. L. 2001. Organic amendments as adisease control strategy for soil born disease of high-value agrricultural crops. Australasian Plant Pathology, 30: 111-117.

Lee, J. S., Seo, S. T., Wang, T. C., Jang, H. I., Pae, D. H., and Engle, L. M. 2004. Effect of potassium silicate amendments in hydroponic nutrient solution on the suppressing of *Phytophthora* blight (*Phytophthora capsici*) in pepper. Plant Pathology Journal, 20: 277-282.

Lehrer, R. I. 1969. Antifungal effects of peroxidase systems. Journal of Bacteriology, 99(2): 361-365.

Lobato, A. K. S., Gonçalves-Vidigal, M. C., Vidigal Filho, P. S., Costa, R. C. L., Cruz, F. J. R., Santos, D. G. C., Silva, C. R., Silva, L. I., and Sousa, L. L. 2009. Changes in photosynthetic pigment and carbohydrate content in common bean cultivars infected by *Colletotrichum lindemuthianum*. Plant Soil Environment, 55(2): 58-61.

Macko, V., Woodbury, W., and Stahmann, M. A. 1968. Effect of peroxidase on germination and growth of mycelium of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. Phytopathology, 58(9): 1250.

Mills, A. A. S., Platt, H. W., and Hurta, R. A. R. 2004. Effect of salt compounds on mycelial growth, sporulation and spore germination of various potato pathogens. Postharvest Biology and Technology, 34: 341-350.

Mirabolfathy, M., Cook, D. E. L., Duncan, J. M., Williams, A. N., Ershad, D., and Alizade, A. 2001. *Phytophthora* pistaciae sp. nov. and *Phyophthora melonis*: The principal causes of pistachio gummosis in Iran. Mycological Research, 10: 1166-1175.

Mirsolaimani, Z., and Mostowifizadeh-Ghalamfarsa, R. 2013. Characterization of *Phytophthora pistaciae*, the causal agent of pistachio gummosis, based on host range, morphology, and ribosomal genome. Phytopathologia Mediterranea, 52(3): 501-516.

Mostowfizadeh-Ghalamfarsa R., Hussaini, K., and Ghasemi-Fasaei, R. 2017. Activity of two silicon salts in controlling the pistachio gummosis-inducing pathogen, *Phytophthora pistaciae***.** Australasian Plant Pathology, 46(4): 323–332.

Raj, S. N., Sarosh, B. R., and Shetty, H. S. 2006. Induction and accumulation of polyphenol oxidase activities as implicated in development of resistance against pearl millet downy mildew disease. *Functional* Plant Biology, 33(6): 563-571.

Sabahi, F. 2013. Investigation of fungal fungal-like soil borne pathogens causal agents of ornamentals mortality in Shiraz. Master's thesis, Shiraz University, Shiraz, Iran. (In Farsi with English abstract)

Samuels, A. l., Glass, A. D. M., Ehret, D. L., and Menzies, J. L. 1991. Mobility and deposition of silicon in cucumber plants. Plant Cell Environment, 14: 485-492.

Silva, H. S. A., da Silva Romeiro, R., Macagnan, D., de Almeida Halfeld-Vieira, B., Pereira, M. C. B., and Mounteer, A. 2004. Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants: non-specific protection and increase in enzyme activities. Biological Control, 29(2): 288-295.

Tuna, A. L., Kaya, C., Higgs, D., Murillo-Amador, B., Aydemir, S., and Girgin, A. R. 2008. Silicon improves salinity tolerance in wheat plants. Environmental and Experimental Botany, 62(1): 10-16.

Van Loon, L. C. 2007. Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. European Journal of Plant Pathology, 119(3): 243-254.

Veeranagamallaiah, G., Jyothsnakumari, G., Thippeswamy, M., Reddy, P. Ch. O., Surabhi, G. K., Sriranganayakulu, G., Mahesh, Y., Rajasekhar, B., Madhurarekha, Ch., and Sudhakar, Ch. 2008. Proteomic analysis of salt stress responses in foxtail millet (*Setaria italica* L. cv. Prasad) seedlings. Plant Science, 175: 631-641.

You, M. P., Sivasithamparam, K., and Kurboke, D. J. (1996). Actinomycetes in organic mulch used in avocado plantations and their ability to suppress *Phytophthora cinnamomi*. Biology and Fertility of Soils, 22, 237-242.

Effect of silicon salts on physiological changes in broad bean infected by *Phytophtora pistaciae*

A. Mohammadi[1] and R. Mostowfizadeh-Ghalamfarsa[2*]

1. M.Sc. graduate of Plant Pathology, Department of Plant Protection, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran
2. ***Corresponding Author:** Professor of Plant Pathology, Department of Plant Protection, School of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran (rmostofi@shirazu.ac.ir)

Received: 22 August 2017 Accepted: 7 May 2018

Abstract

Background and Objectives

Silicon is the most common element in soil that has beneficial effects in enhancing tolerance to biotic and abiotic stresses in plants. The addition of silicon to plant nutrient solution causes decreasing sodium concentration, increasing plant growth, having positive effects on plant reproduction and increasing mechanical resistance. Silicon also affects absorption and translocation of several macro- as well as micronutrient elements and imposes the formation of precipitates under the cuticle, reduces plant transpiration and causes resistance to stresses such as side effects of excessive phosphorus and heavy metals (high concentration of manganese and aluminium) or salinity. Silicon salts such as sodium and potassium silicate causes significant reduction in growth, asexual organ reproduction and dry weight of hyphae, and also prevent the germination of cysts in some plant pathogens such as *Phytophthora* species. Application of silicon salts before and after inoculation of sterilized soil with *Phytophthora pistaciae* significantly reduces the disease by reducing the percentage of colonized roots and the mortality of the broad bean. In this study the *in vivo* activities of sodium and potassium silicate in controlling *P. pistaciae* and *Rhizoctonia solani* as a control were evaluated.

Material and Methods

To study the effect of sodium silicate (0.25, 0.5 and 0.7 mM) and potassium silicate (1, 2 and 4 mM) to increase the resistance of broad bean as a test plant against *P. pistaciae* and *R. solani* a factorial experiment in a completely randomized design with salt treatments before and after inoculation was conducted. In the case of *R. solani* as a control only 5.0 mM of sodium silicate and 2 mM of potassium silicate were applied. The level of catalase, peroxidase, polyphenol oxidase, proline, total protein and carbohydrates in plants as well as pH and the electrical conductivity of soil were examined.

Results

The results showed that silicon salts may enhance broad bean resistance to *P. pistaciae* and *R. solani* by increasing the level of catalase, peroxidase, polyphenol oxidase and total protein and decreasing proline. None of the salts had any effects on the level of carbohydrate content of the plants and pH and the electrical conductivity of soil.

Discussion

According to the results, it can be concluded that the role of silicon salts in promoting broad been tolerance could be due to increasing the activities of the antioxidant enzymes which in turn reduced the oxidative damages of reactive oxygen species produced under disease stress.

Keywords: Biotic stress, Oomycota, Root rot, Silicate salts