

ارزیابی شاخص‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در گزینش ژنوتیپ‌های متحمل پنبه تحت تاثیر بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی

داود بیات ترک^{۱*}، ناصر رادمان^۲، محمدرضا نتاج آقامحلی^۳، مجید طاهریان^۴

^۱ دانشجوی مقطع دکتری گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه زابل

^۲ دانشیار دانشگاه زابل

^۳ سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، استادیار موسسه تحقیقات پنبه کشور

^۴ سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، استادیار مرکز تحقیقات آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۴/۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۷

چکیده

سابقه و هدف: بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی یکی از مهم‌ترین عوامل خسارت‌زای و عامل محدودکننده کشت پنبه در سراسر جهان است. این بیمارگر باعث کلروز برگ، نکروز یا پژمردگی، ریزش برگ یا غوزه و حتی مرگ گیاه می‌شود. همچنین باعث کاهش کمی و کیفی محصول می‌شود. با توجه به اهمیت اقتصادی بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی پنبه، بهترین روش مبارزه با این بیماری استفاده از ارقام متحمل به بیماری است. بنابراین اصلاح و پرورش ارقام مقاوم در طیف گسترده‌ای به عنوان یکی از موثرترین روش‌های کنترل محسوب می‌شود. این آزمایش به منظور تعیین اثر بیماری بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ارقام پنبه در راستای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل انجام شد.

مواد و روش‌ها: آزمایش در طی دو سال ۱۳۹۹-۱۴۰۰ و به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه مرکز تحقیقات آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی (بخش گیاه پزشکی) انجام شد. در سال اول ده رقم تجاری پنبه ایران متعلق به گونه *Gossypium hirsutum* کشت شدند. در آزمایش سال اول صفات زراعی پنبه از قبیل ارتفاع بوته، تعداد برگ، تعداد شاخه رویا، قطر طوقه، اندازه سطح برگ، شدت بیماری، شاخص کلروفیل، محتوای نسبی آب برگ و هدایت الکتریکی اندازه‌گیری گردید. در سال دوم، دو رقم متحمل (بختگان) و حساس (ورامین) منتج از آزمایش سال اول همراه با رقم مقاوم ترموس ۱۴ در گلخانه کشت گردید. در این مرحله ارزیابی میزان پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و فنل کل در زمان‌های مختلف بعد از تلقیح با قارچ بیمارگر انجام شد. تمام صفات اندازه‌گیری شده در طی دو سال با استفاده از نرم افزار آماری SAS تجزیه واریانس و با استفاده از آزمون دانکن، میانگین‌ها مقایسه شدند.

* نویسنده مسئول: dbayat13@gmail.com

یافته‌ها: در سال اول مشخص گردید در بین ده ژنوتیپ کشت شده، تمام صفات زراعی (به غیر از ارتفاع) در رقم بختگان بیشتر و در رقم ورامین کمتر از ارقام دیگر بود. تحت شرایط آلودگی بیشترین شدت بیماری مربوط به ارقام ورامین و کوکرهاندرد بود. در حالی که کمترین شدت بیماری مربوط به رقم بختگان بود. صفات فیزیولوژیک مانند شاخص کلروفیل، محتوای نسبی آب در رقم بختگان بیشتر و در ورامین کمتر بود. در مورد نشت الکترولیتی غشاء (پایداری نسبی غشاء) این قضیه برعکس بود. در سال دوم یافته‌ها از این قرار بود در بین سه ژنوتیپ کشت شده به ترتیب ترموس ۱۴ (مقاوم)، بختگان (متحمل) و ورامین (حساس)، میزان صفات بیوشیمیایی پرولین، کربوهیدرات و فنل کل افزایش قابل توجهی در گیاهان آلوده نسبت به گیاهان شاهد (عدم تلقیح با قارچ بیمارگر) داشت.

نتیجه‌گیری: بنابراین گیاهان با تعداد شاخ و برگ بیشتر، شاخص کلروفیل و محتوای نسبی آب بالاتر، نشت الکترولیتی پایین‌تر، میزان پرولین، کربوهیدرات و فنل بیشتر در مقابل آلودگی به این بیماری تحمل بیشتری دارند.

واژه‌های کلیدی: تنش، بیماری، صفات زراعی، فیزیولوژیکی، پنبه

مقدمه

حدود بیست بیماری با خسارت اقتصادی بالا به گیاه پنبه حمله می‌کنند. مهمترین بیماری‌های قارچی این گیاه *Verticillium* و *Alternaria* هستند (سیا و سالگادو، ۲۰۰۵). بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی یکی از مهم‌ترین عوامل خسارت‌زای پنبه است که تقریباً در هر جایی که پنبه کشت می‌شود وجود دارد و مهم‌ترین عامل محدود کننده کشت پنبه در مناطق مستعد توسعه بیماری است (زانگ و همکاران، ۲۰۱۲). عامل اصلی این بیماری، قارچ *Verticillium dahlia Kleb.* گزارش شده است (کلباهن، ۱۹۱۳). خسارت سالانه پنبه در اثر این بیماری به بیش از ۱/۵ میلیون عدل (هر عدل پنبه ۲۲۷ کیلوگرم) در سراسر جهان می‌باشد (کای و همکاران، ۲۰۰۹). این تلفات می‌تواند تا ۸۰ درصد از تولید پنبه را به خود اختصاص دهد (وی و همکاران، ۲۰۱۵). پژمردگی ورتیسیلیومی بر صفات کمی و کیفی پنبه تاثیر دارد (کوین و همکاران، ۲۰۱۶). در ایران میزان خسارت ناشی از بیماری قارچی ورتیسیلیوم (*Verticillium dahlia*) ۱۵ تا ۲۰ درصد برآورد شده است (توحیدفر، ۲۰۱۲). از علائم قابل توجه بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی پنبه، کاهش رشد، تغییر رنگ برگ، پژمردگی و ریزش برگ می‌باشد. کلروز (زردی) پهنک برگ‌های آلوده در بین رگبرگ‌ها و حاشیه برگ‌ها و در نهایت ریزش آنها، همچنین تغییر رنگ آوندهای چوبی به صورت قهوه‌ای روشن و تیره از علائم بارز این بیماری می‌باشد (بل، ۲۰۰۱). با توجه به اهمیت اقتصادی بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی پنبه، بهترین روش مبارزه با این بیماری استفاده از ارقام متحمل به بیماری است که به عنوان مهار زیستی

تلقی می‌شود (کوبین و همکاران، ۲۰۱۶). در سال‌های اخیر مکانیسم‌های دفاعی گیاهان به ویژه سازوکارهای بیوشیمیایی پاسخ به پاتوژن‌ها و آفات مورد توجه قرار گرفته است. یکی از شایع ترین راهبردهای مقاومت به تنش در گیاهان، تولید فراوان انواع متفاوتی از مواد محلول آلی سازگار است. از بین این مواد محلول، افزایش محتوای پرولین در شرایط تنش باعث محافظت غشای سلولی، پروتئین‌ها، آنزیم‌های سیتوپلاسمی و مهار گونه‌های فعال اکسیژن و حذف رادیکال‌های آزاد می‌گردد. در گیاهان، متابولیت‌های ثانویه گیاه شامل ترکیبات فنلی نظیر تانن‌ها، فلاونول‌ها و فنل‌ها در برگ و ساقه می‌باشد که در مقاومت گیاه علیه بیمارگرها دخالت دارند. ویژگی ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی در بسیاری از گونه‌های گیاهی مورد بررسی قرار گرفته است.

با توجه به اهمیت و خسارت بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی در مناطق مختلف پنبه‌کاری کشور، این پژوهش با هدف بررسی خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ارقام پنبه در راستای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل و همچنین بررسی ارتباط صفات مذکور با شدت بیماری انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه جدایه قارچ پژمردگی ورتیسیلیومی پنبه (قارچ *Verticillium dahliae*): جدایه استاندارد از موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور تهیه گردید^۱. جدایه بعد از این‌که در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد رشد کرد و تمام سطح پتری‌دیش پوشیده شد، در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود و هر ۶ ماه تجدید کشت می‌گردد.

تهیه زاد مایه قارچ: قارچ *Verticillium dahliae* در تشتک پتری ۹ سانتی متری روی محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار^۲ کشت داده و در دستگاه انکوباتور در تاریکی در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد گذاشته شد. مطابق روش سینگلتون و همکاران (۱۹۹۲) بعد از ۷ روز مقداری از محیط کشت را با سوزن برداشته و در یک ارلن ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی آب مقطر سترون گذاشته و خوب تکان داده شد. محتویات ارلن را از صافی عبور داده و سپس یک قطره از محلول را روی یک لام ریخته و با استفاده از دستگاه هموسایتومتر غلظت زادمایه^۳ ۱۰^۶ کنیدی تعیین گردید (گالبیری و همکاران، ۲۰۰۸).

سال اول

مایه‌زنی در گلخانه: بذور ده رقم تجاری پنبه ایران متعلق به گونه *Gossypium hirsutum* شامل: ورامین، ساحل، بختگان، خورشید، ارمغان، مهر، کوکر، خرداد، کاشمر و دلتاپاین مورد آزمایش قرار

۱. جدایه استاندارد ورتیسیلیوم با کد VD-CoG-22

۲. PDA شرکت زیست کاوش ایرانیان

گرفت. بر اساس روش شن و همکاران (۲۰۰۸) شرایط کنترل شده گلخانه برای رشد گیاهان پنبه، دمای 24 ± 1 درجه سانتی‌گراد، ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۶۰ درصد بود. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲۰ تیمار در سه تکرار در گلخانه انجام شد. فاکتور اول ارقام پنبه و فاکتور دوم آلوده‌سازی ارقام پنبه با جدایه قارچی بود. هر تکرار سه گلدان پلاستیکی سه لیتری محتوی خاک سترون بود. در هر گلدان چهار عدد بذر پنبه ضد عفونی شده کشت گردید. مطابق روش سلیک و همکاران (۲۰۱۷) گیاهچه‌ها در مرحله ۶ برگی تنک شده و یک گیاهچه در هر گلدان باقی گذاشته شد. بر اساس روش دینگرا و سینکلیر (۱۹۸۶) مایه زنی ۲۰ روز بعد از کشت در مرحله ۶ تا ۸ برگی با روش زخم ساقه و با سوسپانسیون اسپور قارچ با غلظت 10^6 کنیدی در میلی‌لیتر انجام گردید. تیمار شاهد فقط با آب مقطر بدون سوسپانسیون اسپور قارچ مایه‌زنی شد.

اندازه‌گیری صفات زراعی گیاهچه‌های پنبه آلوده شده به ورتیسیلیوم: در این آزمایش، ۴۰ روز بعد از مایه‌زنی گیاهچه‌های هر گلدان، صفات زراعی پنبه از قبیل ارتفاع بوته، تعداد برگ‌ها، تعداد شاخه‌ها، اندازه سطح هر برگ، شاخص کلروفیل، محتوای نسبی آب برگ و هدایت الکتریکی اندازه‌گیری گردید.

شاخص کلروفیل: محتوای کلروفیل یا غلظت کلروفیل آخرین برگ توسعه یافته در زمان نمونه برداری با استفاده از دستگاه کلروفیل سنج (کلروفیل‌متر)^۱ اندازه‌گیری می‌شود. در ابتدا پس از روشن کردن دستگاه یک بار آن را بدون قرار دادن برگ در محفظه برگ قرائت کرده تا دستگاه کالیبره شده و سپس کار قرائت را از سه نقطه از هر برگ انجام و بعد میانگین سه نقطه را با دکمه اوریج (Average) مشخص می‌کنیم. لازم به ذکر است نمونه برداری نباید از روی رگبرگ‌ها انجام شود. باید توجه داشت که عدد اسپد (SPAD) به هیچ عنوان مقدار کلروفیل را مشخص نمی‌کند، بلکه تخمینی از غلظت کلروفیل را نشان می‌دهد. این عدد همبستگی بالایی با مقدار کلروفیل برگ دارد (مینولتا، ۱۹۸۹).

اندازه‌گیری سطح برگ: با استفاده از دستگاه Leaf Area Meter^۲ می‌توان این مقدار را محاسبه کرد. بعد از روشن نمودن لامپ‌های دستگاه و دوربین، ابتدا باید دستگاه را با استفاده از طلق‌های مخصوص کالیبره نماییم. سپس با قرار دادن یک نمونه از برگ گیاه پنبه روی صفحه چرخان دستگاه و فشردن آیکن Camera از برگ عکس برداری می‌کنیم. در نهایت با کلیک بر روی دکمه Measure مساحت برگ بر حسب سانتی‌متر مربع قرائت می‌نماییم (جانسون، ۱۹۶۷).

۱. دستگاه کلروفیل متر SPAD 502 PLUS کمپانی KONICA MINOLTA ژاپن.

۲. دستگاه سطح برگ‌سنج GateHouse مدل 4cht Aok کشور سازنده UK با دقت ۰/۰۱ سانتی‌متر مربع.

محتوای نسبی آب برگ: برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، برگ‌ها پس از نمونه‌برداری بلافاصله وزن گردید. سپس ۲۴ ساعت در آب دیونیزه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا دوباره آب جذب کند و مجدداً وزن شد. نمونه‌ها در آن ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک گردیده و وزن شد (اسمارت و بینگام، ۱۹۷۴). مقدار محتوای نسبی آب برگ مطابق فرمول (۱) به صورت زیر محاسبه می‌گردد:

(وزن خشک - وزن نمونه آبیگری شده) / (وزن خشک - وزن تر نمونه) = محتوای نسبی آب برگ: (۱)

سنجش میزان نشت الکترولیتی غشاء پلاسمایی: ۰/۱ برگ از هر نمونه را وزن کرده و داخل دو سری لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر شده قرار می‌دهیم. سپس یک سری از نمونه‌ها را در دستگاه بن ماری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار می‌دهیم و پس از این زمان هدایت الکتریکی نمونه‌ها به کمک دستگاه EC متر اندازه‌گیری می‌کنیم. سری دوم از لوله آزمایش را نیز به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و پس از سرد شدن، هدایت الکتریکی آنها را نیز اندازه‌گیری می‌کنیم (سایرام و سریواستاوا، ۲۰۰۱). درصد هدایت الکتریکی بیانگر میزان نشت الکتریکی مواد از غشاء می‌باشد که مطابق فرمول (۲) محاسبه می‌گردد. EC1 و EC2 هدایت الکتریکی محلول‌ها به ترتیب قبل و بعد از جوشیدن بوده است.

$$(۲): \%EC = (EC1/EC2) \times 100$$

اندازه‌گیری شدت بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی (Disease Severity): شدت بیماری گیاهچه‌های پنبه آلوده شده به ورتیسیلیوم مطابق روش بچارنو - آلکازار و همکاران (۱۹۹۶) با استفاده از فرمول زیر (۳) محاسبه گردید:

$$(۳): DS = (A \times 0) + (B \times 1) + (C \times 2) + (D \times 3) + (E \times 4) \times 100 / 4M$$

که در این فرمول،

A: تعداد بوته با درجه صفر (بوته کاملاً سالم)

B: تعداد بوته با درجه یک (گیاه با آلودگی صفر تا ۳۳ درصد)

C: تعداد بوته با درجه دو (گیاه با آلودگی ۳۴ تا ۶۶ درصد)

D: تعداد بوته با درجه سه (گیاه با آلودگی ۶۷ تا ۱۰۰ درصد)

E: تعداد بوته با درجه چهار (گیاه کاملاً بدون برگ)

M: تعداد کل بوته شمارش شده می‌باشد.

سال دوم: اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیک: دو رقم پنبه متحمل (بخنگان) و حساس (ورامین) برگزیده از نتایج سال اول آزمایش را همراه با رقم مقاوم ترموس ۱۴ انتخاب کرده و مراحل تهیه زادمایه قارچ، روش کاشت این بذور و مایه‌زنی در گلخانه را مطابق جزئیات سال اول انجام می‌دهیم. در این

آزمایش، در زمان‌های ۳،۶،۹،۱۲ و ۱۵ روز بعد از مایه زنی گیاهچه‌های هر گلدان، صفات فیزیولوژیک مانند میزان پرولین، مقدار کربوهیدرات‌های محلول و محتوای فنل کل گیاه اندازه‌گیری گردید. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه انجام شد. فاکتور اول ارقام پنبه، فاکتور دوم آلوده‌سازی ارقام پنبه با جدایه قارچی و فاکتور سوم زمان‌های مختلف اندازه‌گیری صفات بعد از مایه‌زنی بود.

اندازه‌گیری میزان پرولین گیاه: ۱۰۰ میلی گرم نمونه برگ‌گی هموزن شده با ازت مایع را با ۲ میلی لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد مخلوط و با دور ۱۵۰۰۰ جی به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. یک میلی لیتر از محلول بالای عصاره ذکر شده را داخل لوله‌های آزمایش ۱۰ میلی لیتر ریخته شد. یک میلی لیتر معرف ناین هیدرین به آن اضافه و سپس یک میلی لیتر اسید استیک اضافه گردید. به مدت یک ساعت در بن ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده، سپس داخل یخ قرار داده شد. پس از سرد شدن نمونه‌ها به آنها ۲ میلی لیتر تولوئن اضافه شد. سپس به شدت تکان داده سپس به حالت آرامش قرار داده تا فاز بالایی از پایینی جدا گردد. از محلول رویی واکنش (قسمت رنگی یا همان فاز تولوئن) برداشت و در طول موج ۵۲۰ نانومتر اسپکت شد. قبل از شروع به کار، دستگاه اسپکتروفتومتر توسط نمونه صفر پرولین بلانک یا کالیبره شد (روش بیتز و همکاران، ۱۹۷۳).

اندازه‌گیری غلظت کربوهیدرات‌های محلول: میزان کربوهیدرات‌های محلول به روش فنل اسیدسولفوریک اندازه‌گیری شد (دابویس و همکاران، ۱۹۵۶). نمونه‌های برگ‌گی خشک و پودر گردید. ۱۰۰ میلی گرم برگ رادر ۱۰ میلی لیتر اتانول (۷۰ درصد) ریخته و به مدت یک هفته در یخچال در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد. سپس از محلول بالایی در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی لیتری ریخته و در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار در دور ۳۰۰۰ جی به مدت ۵ دقیقه قرار می‌دهیم (مواد جامد نامحلول جدا گردد). میزان یک میلی لیتر از محلول بالای سانتریفیوژ با یک میلی لیتر آب مقطر و یک میلی لیتر فنل (۵ درصد) و پنج میلی لیتر اسید سولفوریک خالص (۹۸ درصد) مخلوط شد. چهار میلی لیتر محلول فوق را در لوله‌های مخصوص اسپکتروفتومتر ریخته و غلظت کربوهیدرات‌های محلول به وسیله میزان جذب نور در طول موج ۴۸۵ نانومتر و با توجه به منحنی استاندارد حاصل از غلظت‌های مختلف گلوکز تعیین گردید.

اندازه‌گیری محتوای فنل کل: برای این منظور از روش فولین - شیکالتو اندازه‌گیری شد (سینگلتون و روسی، ۱۹۶۵). میزان ۱۰۰ میلی گرم برگ وزن و درون میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی لیتری قرار گرفت و پس از ریختن ازت مایع با هموزن‌نایز برقی کاملاً پودر شدند. یک میلی لیتر اتانول به نمونه اضافه شده و پس از مخلوط کردن نمونه‌ها، میکروتیوب‌ها در دستگاه سانتریفیوژ یخچال‌دار در دور ۳۰۰۰ جی به

مدت ۵ دقیقه قرار می‌دهیم. میزان ۲۵ میکرولیتر از ماده شفاف بالایی نمونه به میکروتیوب‌های جدید منتقل شد. سپس به نمونه ۱۰۰۰ میکرولیتر آب مقطر و ۵۰ میکرولیتر معرف فولین-شیکالتو اضافه شد و ۵ دقیقه بعد ۳۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم (۲۰ درصد) هم به آن اضافه گردید. محلول فوق به مدت ۳۰ دقیقه کنار گذاشته شد و بعد از این زمان میزان جذب نور در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۵ نانومتر تعیین گردید.

کل این آزمایش (سال اول و دوم) در گلخانه و به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گردید. قبل از تجزیه آماری داده‌های آزمایش، آزمون نرمال بودن داده‌ها انجام شد. داده‌های مربوط به صفت شدت بیماری با استفاده از تبدیل $\sqrt{X + 0.5}$ نرمال شدند. صفات اندازه‌گیری شده با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ تجزیه واریانس و با استفاده از آزمون دانکن، میانگین‌ها مقایسه شدند.

نتیجه و بحث

سال اول: نتایج نشان داد رقم‌های مورد آزمایش از نظر تعداد برگ، قطر طوقه، تعداد شاخه، سطح برگ، شاخص کلروفیل، شدت بیماری، محتوای نسبی آب برگ و نشت الکترولیتی غشاء در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری داشتند. این اختلاف از نظر ارتفاع بوته دیده نشد (جدول ۱). اثر متقابل آلودگی × رقم برای تمام صفات (به جز ارتفاع بوته)، در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). مقایسه میانگین صفات فوق (به جز ارتفاع بوته) در جدول (۲)، اشاره بر این موارد دارد که گیاهان پنبه تلقیح شده با قارچ بیماری‌زای پژمردگی ورتیسیلیومی نسبت به گیاهان شاهد یا کنترل (عدم آلودگی با قارچ) تعداد برگ، تعداد شاخه، سطح برگ و قطر طوقه کمتری داشتند. بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی سبب ریزش برگ، گل و بار بوته می‌شود. مشابه چنین نتایجی توسط ولز و مردیت (۱۹۸۴) و کالب و گرین (۱۹۹۲) نیز گزارش گردید. گوپکوچه‌آ و همکاران (۲۰۰۰)، در آزمایش تاثیر پژمردگی ورتیسیلیومی بر روی فیزیولوژی گیاهان فلفل، دریافتند که ارتفاع بوته در گیاهان آلوده به بیماری و سالم (شاهد) مشابه و یکسان بود. به نظر قجری و اکرم‌قادری (۱۳۸۵) عواملی مانند نوع خاک، میزان رطوبت، حاصل خیزی خاک، رقم و تراکم بوته بر ارتفاع گیاه تاثیر می‌گذارند. گیاهان پنبه آلوده با قارچ پژمردگی ورتیسیلیومی در مقایسه با گیاهان شاهد، شاخص کلروفیل و محتوای نسبی آب برگ کمتری داشته ولی نشت الکترولیتی غشاء سلولی به مراتب بالاتر و قابل ملاحظه بود. در تحقیقی، محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها در ژنوتیپ‌های پنبه با القای تنش خشکی در مقایسه با شاهد کاهش پیدا کرد و هنگام رفع تنش خشکی محتوای کاروتنوئیدها در ژنوتیپ‌های پنبه افزایش پیدا کرد (کومار و همکاران، ۲۰۰۷). کاهش در محتوای نسبی آب برگ

می‌تواند به علت کاهش دسترسی به آب در شرایط تنش باشد، یا اینکه سیستم‌های ریشه‌ای به دلیل کاهش سطح جذب، قادر به جبران آب از دست رفته توسط تعرق نباشند (اسمارت و بینگام، ۱۹۷۴). در گیاهانی که در معرض تنش‌های محیطی قرار گرفته‌اند، به‌ویژه غشاها به میزان زیادی توسط گونه‌های فعال اکسیژن تحت تأثیر قرار می‌گیرند. همچنین نفوذپذیری غشاء افزایش و توان غشای سلولی برای کنترل ورود و خروج مواد نیز کاهش یابد (نواب پور و همکاران، ۲۰۰۳).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده بر روی ژنوتیپ‌های مورد بررسی

منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع	تعداد برگ	قطر طوقه	تعداد شاخه رویشی	شاخص کلروفیل	سطح برگ	شدت بیماری	محتوای نسبی آب برگ	نشت الکترولیتی غشاء
آلودگی	۱	۰/۱۵ ^{ns}	۶/۶۶ ^{**}	۰/۲۷ ^{**}	۸/۸۱ ^{**}	۸۶۳/۳۶۲ ^{**}	۱۸۶۹۱/۳۵ ^{**}	۰/۳۷۹ ^{**}	۰/۰۲۲ ^{**}	۳۶۸/۰۳۲۰ ^{**}
رقم	۹	۲/۶۷ ^{ns}	۵/۵۱ ^{**}	۰/۰۷ ^{**}	۳/۶۶ ^{**}	۱۰۵/۷۳ ^{**}	۱۵۰۷/۹۲ ^{**}	۰/۰۵۹ ^{**}	۰/۰۳۴ ^{**}	۲۴۰/۱۰۵۰ ^{**}
رقم*آلودگی	۹	۱/۳۷ ^{ns}	۲۱/۲۲ ^{**}	۰/۰۱ ^{**}	۱/۲۹ ^{**}	۳۲/۸۴ ^{**}	۵۱۳/۲۰ ^{**}	۰/۰۵۹ ^{**}	۰/۰۱۳ ^{**}	۳۱۳/۸۵۲۰ ^{**}
خطا	۴۰	۱/۳۵۰	۰/۰۱۶۰	۰/۰۱۰	۰/۰۸۷	۰/۲۱۰۰	۵/۰۵۰۰	۰/۰۰۰۰۳	۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰۹۰
CV%	-	۳/۱۲	۲/۳۶	۵/۸۷	۶/۲۷	۱/۸۱	۱/۵۵	۰/۷۹	۱/۸۷	۰/۵۲

^{ns} معنی‌دار نمی‌باشد. * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات در تیمار سطوح آلودگی

سطوح آلودگی	ارتفاع (سانتی‌متر)	تعداد برگ	قطر طوقه (سانتی‌متر)	تعداد شاخه رویشی	شاخص کلروفیل	سطح برگ (سانتی‌متر مربع)	شدت بیماری	محتوای نسبی آب برگ	نشت الکترولیتی غشاء (درصد)
آلودگی	۳۷/۳۰ a	۵/۱۳ b	۰/۶۳ b	۴/۳۳ b	۲۱/۷۶ b	۱۲۷/۴۰ b	۰/۸۶ a	۰/۲۴۲ b	۲۰/۵۲ a
عدم آلودگی	۳۷/۲۰ a	۵/۸۰ a	۰/۷۷ a	۵/۱۰ a	۲۹/۳۴ a	۱۶۲/۷۰ a	۰/۷۱ b	۰/۲۸۲ a	۱۵/۵۷ b

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات در تیمار سطوح ارقام

رقم	ارتفاع (سانتی‌متر)	تعداد برگ	قطر طوقه (سانتی‌متر)	تعداد شاخه رویا	سطح برگ (سانتی‌متر مربع)	شاخص کلروفیل	شدت بیماری	محتوای نسبی آب برگ	نشت الکترولیتی غشاء (درصد)
کاشمر	۳۷/۶ a	۴/۱۶ f	۰/۶۵ c	۱/۷۵ f	۱۵۱/۱۶ b	۲۷/۳۸ c	۰/۷۵ e	۰/۲۹۷ c	۱۴/۱۶۰ h
خورشید	۳۶/۶ a	۵/۰۰ d	۰/۸۰ a	۱/۵۰ f	۱۴۱/۵۰ d	۲۵/۳۵ e	۰/۷۵ e	۰/۲۶۶ e	۱۵/۶۶۰ g
ورامین	۳۷/۸ a	۷/۰۰ a	۰/۷۵ ab	۶/۰۰ a	۱۴۱/۰۰ d	۱۸/۰۶ i	۰/۸۴ a	۰/۲۰۹ i	۳۲/۰۵۰ a
خرداد	۳۶/۰۰ a	۶/۰۰ c	۰/۸۰ a	۳/۸۳ e	۱۴۴/۶۶ c	۳۰/۸۸ b	۰/۷۸ d	۰/۳۳۴ b	۱۲/۱۳۰ i
کوگره‌اندرد	۳۷/۱ a	۴/۵۰ e	۰/۷۱ b	۴/۱۶ cd	۱۲۴/۸۳ g	۲۲/۶۳ h	۰/۸۲ b	۰/۲۱۶ h	۲۴/۷۳۰ b
بختگان	۳۷/۶ a	۶/۵۰ b	۰/۸۰ a	۴/۵۰ c	۱۳۷/۵۰ e	۳۲/۷۸ a	۰/۷۴ f	۰/۳۷۵ a	۱۰/۷۵۰ j
ارمغان	۳۶/۸ a	۶/۰۰ c	۰/۶۲ c	۵/۱۶ b	۱۵۱/۱۶ b	۲۶/۶۵ d	۰/۸۰ c	۰/۲۵۹ f	۱۶/۸۰۰ e
دلنایپاین	۳۸/۳ a	۴/۵۰ e	۰/۸۰ a	۵/۱۶ b	۱۴۵/۳۳ c	۲۳/۶۳ g	۰/۷۸ d	۰/۲۲۲ g	۱۶/۳۵۰ f
ساحل	۳۷/۰۰ a	۵/۰۰ d	۰/۶۳ c	۵/۱۶ b	۱۳۰/۰۰ f	۲۴/۶۶ f	۰/۷۹ d	۰/۲۶۴ ef	۱۷/۴۳۰ d
مهر	۳۷/۳ a	۶/۰۰ c	۰/۴۷ d	۵/۱۶ b	۱۸۳/۳۳ a	۲۳/۴۸ g	۰/۸۰ c	۰/۲۹۹ d	۲۰/۴۱۰ c

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل رقم \times آلودگی نشان داد تحت شرایط آلودگی بیشترین شدت بیماری مربوط به ارقام ورامین و کوکرهاندرد بود. در حالی که کمترین شدت بیماری مربوط به رقم بختگان بود. در این رابطه سه گروه در بین ارقام از نظر شدت بیماری مشخص گردید. گروه اول شامل ورامین، کوکرهاندرد؛ گروه دوم شامل دلتاپاین، ساحل و خرداد و گروه سوم شامل بختگان، خورشید و کاشمر می‌باشد (جدول ۴). از نظر تعداد شاخه روبا، کمترین اختلاف بین گیاهان آلوده و سالم مربوط به ارقام بختگان، کاشمر و خورشید بود. در حالی که این اختلاف در بین ارقام ورامین و کوکرهاندرد قابل ملاحظه بود. البته ارقام کاشمر و خورشید جزء ارقام تیپ صفر هستند، لذا رقم بختگان از این نظر رجحان و برتری دارد. زینل‌زاده‌تبریزی و منصوری (۲۰۲۱) در یک پژوهش گزارش کردند که ژنوتیپ‌های متحمل به بیماری پژمردگی فوزاریومی کنگد از نظر خصوصیات زراعی مهم (میزان سبزیگی برگ و تعداد شاخه) نسبت به رقم شاهد برتر و متمایز بودند. استفاده از ارقام متحمل یکی از مهمترین روش‌های مدیریت بیماری‌های پژمردگی‌های ورتیسیلیومی است (کلاسترمن و همکاران، ۲۰۰۹). ارقام ساحل و بختگان در ایران به عنوان ارقام متحمل در ایران به صورت وسیع کشت شده‌اند. بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی سبب ریزش برگ، گل و بار بوته می‌شود (ولز و مردیت، ۱۹۸۴ و کالب و گرین، ۱۹۹۲). برخی از عوامل بیمارگر نیز می‌توانند نقشی مشابه با تنش خشکی روی شاخص‌های رشدی گیاه داشته باشند. عوامل بیمارگر می‌توانند باعث ریزش و در نتیجه کاهش تعداد برگ و همچنین کاهش سطح برگ در گیاهان شوند. محمود جانلو و هوشیارفرد (۲۰۰۲) در بررسی شاخص بیماری در ۲۱ رقم بومی و تجاری پنبه، ژنوتیپ‌های پنبه را بر اساس تحمل و حساسیت به چند گروه دسته بندی کردند به طوری که ارقام تاشکند و بختگان را به عنوان ارقام متحمل و ارقام ورامین، هوپی کالا و کوکرهاندرد را به عنوان ارقام حساس گزارش نمودند.

از نظر شاخص کلروفیل، کمترین اختلاف بین گیاهان آلوده و سالم مربوط به ارقام بختگان، خورشید و خرداد بود. در حالی که این اختلاف در بین ارقام ورامین و کوکرهاندرد فاحش و آشکار بود. مشابه چنین نتایجی توسط زینل‌زاده‌تبریزی و منصوری (۲۰۲۱) گزارش گردید. عبدال مکسود و همکاران (۲۰۱۸) در یک تحقیق استفاده از عوامل بیولوژیک و کود کمپوست بر میزان بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی فلفل گزارش کردند که در تیمار شاهد (فقط آلوده به قارچ) میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئیدها و اسید اسکوربیک آزاد در مقایسه با تیمار گیاهان درمان شده کاهش معنی‌داری داشت. دوام فتوسنتز و حفظ کلروفیل برگ تحت شرایط تنش از جمله شاخص‌های فیزیولوژیکی مقاومت به تنش است. در اثر تنش زیستی و غیر زیستی، افزایش میزان کاروتنوئیدها با توجه به نقش آن‌ها در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی برای محافظت از رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل) پیش بینی می‌شود. تحت تنش، افزایش رادیکال‌های فعال اکسیژن تا حد زیادی می‌تواند به کاروتنوئیدها آسیب

برسانند. نتیجه این امر صدمه به رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاهش واکنش‌های فتوشیمیایی است (آقائی درگاهی و همکاران، ۲۰۲۱).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل آلودگی و ارقام

آلودگی	رقم	ارتفاع (سانتی‌متر)	تعداد برگ	قطر طوقه (سانتی‌متر)	تعداد شاخه رویا	سطح برگ (سانتی‌متر مربع)	شاخص کلروفیل	شدت بیماری	محتوای نسبی آب برگ	الکترولیتی غشاه (درصد)	نشت
آلوده	کاشمر	۳۸/۳۰a	۵d	۰/۷۰c	۱/۵۰e	۱۱۷/۶۶h	۲۰/۲۳i	۰/۸۰e	۰/۲۴fgh	۲۴/۵۵g	
آلوده	خورشید	۳۷/۰۰a	۶c	۰/۸۰b	۱/۲۵e	۱۰۱/۳۳j	۲۱/۴۰h	۰/۸۱e	۰/۲۰k	۲۵/۶۳f	
آلوده	ورامین	۳۸/۳۰a	۴e	۰/۷۰c	۳/۳۳d	۱۳۲/۶۶g	۱۶/۸۶j	۰/۹۸a	۰/۱۱m	۳۲/۶۹a	
آلوده	خرداد	۳۶/۳۶a	۳f	۰/۷۰c	۴c	۱۱۵/۶۶h	۲۳/۳۳g	۰/۸۶d	۰/۲۹e	۲۳/۸۷g	
آلوده	کوکرهاندرد	۳۷/۳۰a	۴e	۰/۶۷cd	۳/۳۳d	۱۰۷i	۱۲/۳۶k	۰/۹۴b	۰/۱۱m	۳۰/۴۷b	
آلوده	بختگان	۳۷/۶۰a	۵d	۰/۷۳c	۴/۳۳c	۱۳۷/۳۳f	۲۸/۰۳e	۰/۷۸f	۰/۳۳bc	۲۰/۱۳i	
آلوده	ارمغان	۳۷/۳۰a	۵d	۰/۴۳f	۵b	۱۱۷/۳۳h	۲۱/۷۶h	۰/۹۰c	۰/۱۹l	۲۶/۱۹e	
آلوده	دلنایپاین	۳۸/۳۰a	۳f	۰/۶۳cd	۵b	۱۳۶/۶۶f	۲۳/۹۳g	۰/۸۶d	۰/۲۹e	۲۷/۴۷d	
آلوده	ساحل	۳۶/۳۰a	۵d	۰/۵۲e	۴/۳۳c	۱۳۲/۳۳g	۲۷/۹۳e	۰/۸۷d	۰/۲۴fgh	۲۲/۶۷h	
آلوده	مهر	۳۶/۶۰a	۴e	۰/۵۱۶e	۴/۳۳c	۱۳۸/۳۳f	۲۱/۳۳h	۰/۸۹c	۰/۲۱j	۲۸/۶۱c	
سالم	کاشمر	۳۷/۰۰a	۶c	۰/۸۰b	۱/۷۵e	۱۵۸d	۲۵/۲۰f	۰/۷۱g	۰/۲۹e	۱۶/۷۶l	
سالم	خورشید	۳۶/۳۰a	۷b	۰/۹۰a	۱/۵۰e	۱۵۳e	۲۵/۳۶f	۰/۷۱g	۰/۲۶fg	۱۵/۷۶m	
سالم	ورامین	۳۷/۳۰a	۸a	۰/۹۴a	۶a	۱۹۶/۶۶a	۲۸/۶۶a	۰/۷۱g	۰/۲۲i	۱۱/۱۰p	
سالم	خرداد	۳۶/۳۰a	۵d	۰/۸۰b	۵b	۱۵۱e	۲۷/۹۳e	۰/۷۱g	۰/۳۳bc	۱۷/۸۳k	
سالم	کوکرهاندرد	۳۷/۰۰a	۷b	۰/۹۱a	۶a	۱۷۰b	۳۳/۷۳c	۰/۷۱g	۰/۲۱j	۱۲/۱۶k	
سالم	بختگان	۳۷/۶۰a	۵d	۰/۸۰b	۵b	۱۶۵bc	۳۰/۴۰d	۰/۷۱g	۰/۳۴a	۱۸/۲۶j	
سالم	ارمغان	۳۶/۳۰a	۷b	۰/۶۳cd	۶a	۱۶۴/۳۳bc	۲۶/۹۰ef	۰/۷۱g	۰/۲۵dfg	۱۴/۱۲n	
سالم	دلنایپاین	۳۸/۳۰a	۵d	۰/۷۰c	۶a	۱۶۷/۳۳bc	۲۷/۹۳e	۰/۷۱g	۰/۳۴b	۱۷/۲۰k	
سالم	ساحل	۳۷/۶۶a	۶c	۰/۶۳cd	۵/۳۳b	۱۶۵/۶۶bc	۳۴/۵۳b	۰/۷۱g	۰/۲۸e	۱۷/۶۶k	
سالم	مهر	۳۸/۰۰a	۶c	۰/۶۳cd	۶a	۱۷۳/۶۶b	۲۷/۳۶e	۰/۷۱g	۰/۲۶f	۱۳/۸۳o	

در بین گیاهان آلوده و سالم، کم‌ترین اختلاف محتوای نسبی آب مربوط به رقم بختگان، کاشمر، خرداد و بیش‌ترین در ارقام ورامین و کوکرهاندرد مشاهده شد. قارچ عامل پژمردگی ورتیسیلیومی، مقاومت به حرکت آب را در اثر کاهش قطر عناصر آوندی افزایش می‌دهد. بالا بودن محتوای نسبی آب، بافت را قادر می‌کند که به از دست رفتن آب مقاوم تر باشد. همچنین باعث استحکام بیشتر دیواره سلولی می‌شود و توانایی آن برای پایداری در برابر متلاشی شدن مکانیکی در اثر از دست دادن آب بافتی را افزایش می‌دهد (گویکواچه آ و همکاران، ۲۰۰۰). تغییر در پتانسیل آب گیاه مستقیماً با سطح رطوبت خاک ارتباط دارد. همچنین این پارامتر تحت تاثیر عوامل بیماری‌زایی (قارچ و باکتری) که عملکرد سیستم آوندی گیاه را مختل می‌کنند، قرار دارد. نتایج نشان داد که ارقام متحمل بختگان، کاشمر، خرداد نسبت به ارقام حساس ورامین و کوکرهاندرد حتی در شرایط بدون تنش حاوی محتوای

نسبی آب بیشتری بوده و قادر هستند در سطوح تنش بالا محتوای نسبی آب خود را در سطح بالایی نگه دارند و از صدمات کمتری ناشی از پسابدگی و کاهش محتوای آب برخوردار گردند. تفاوت در محتوای آب نسبی در ارقام مختلف می‌تواند به توانایی آنها در جذب آب از خاک یا توانایی بستن روزنه‌ها و تعرق کمتر در شرایط تنش مربوط گردد.

نتایج جدول (۴) نشان داد که رقم بختگان و ورامین به ترتیب کم‌ترین و بیش‌ترین میزان نشت الکترولیتی را داشتند. بنابراین رقم بختگان متحمل به شرایط تنش بوده و می‌توان گفت که این رقم در اثر تنش دچار آسیب سلولی کمتری می‌شود. در رقم متحمل بختگان تنش به غشای سلولی آسیب وارد نموده ولی چون مقدار آسیب تقریباً در آستانه قرار دارد ممکن است با ایجاد شرایط مناسب و در اختیار قرار گرفتن مجدد واکنش‌های متابولیکی برای گیاه، سلول دوباره به حالت اول بازگشته و سیالیت غشاء مجدداً به دست آید. مقایسه‌ی نتایج این مطالعه در رابطه با عکس‌العمل ارقام مشابه با تحقیقات دیگر نشان می‌دهد که اختلاف در گزارش‌ها می‌تواند به اثرهای محیطی بر عکس‌العمل ارقام نسبت به بیمارگر مربوط باشد. مسئله‌ی تغییر عکس‌العمل ارقام پنبه نسبت به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی در تحقیقات دیگر نیز پیشنهاد شده است (صانعی و همکاران، ۲۰۱۳؛ خاسخلی و همکاران، ۲۰۱۳).

سال دوم: نتایج نشان داد رقم‌های مورد آزمایش از نظر میزان پرولین، مقدار کربوهیدرات‌های محلول و محتوای فنل کل در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری داشتند. (جدول ۵). اثر متقابل آلودگی × رقم، آلودگی × زمان و آلودگی × رقم × زمان برای تمام صفات در سطح ۱ درصد معنی‌دار گردید (جدول ۵). مقایسه میانگین صفات فوق در جدول (۶)، اشاره بر این موارد دارد که گیاهان پنبه تلقیح شده با قارچ بیماری‌زای پژمردگی ورتیسیلیومی نسبت به گیاهان شاهد یا کنترل (عدم آلودگی با قارچ) میزان پرولین، مقدار کربوهیدرات‌های محلول و محتوای فنل بیشتری داشتند. رضانی‌مقدم و همکاران (۲۰۱۳) با تحقیق ارزیابی میزان غلظت پرولین و قندهای محلول در گونه‌های زراعی پنبه (*Gossypium sp.*) تحت شرایط تنش شوری، گزارش کردند که در شرایط تنش میزان پرولین و قندهای محلول بیشتر از شرایط بدون تنش بود.

تنظیم اسمزی در گیاهان به‌واسطه تجمع مواد محلول سازگار یا متابولیت‌ها حاصل می‌شود. این ترکیبات به دلیل عدم مداخله در واکنش‌های عادی متابولیکی گیاه به‌عنوان متابولیت‌های سازگار یا مکمل شناخته می‌شوند که در گیاهان متحمل به تنش به‌طور طبیعی تجمع می‌یابند. انباشت این متابولیت‌ها از نظر ارزش سازگاری یا غیر سازگاری در برابر تنش مورد بحث است. تجمع پرولین، قندهای محلول و سایر متابولیت‌ها که در تنظیم اسمزی دخالت می‌کنند از گیاهان مختلفی گزارش شده است (لیو و همکاران، ۲۰۰۴). در جدول (۵) نتایج نشان داد که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر تمام صفات مورد بررسی تفاوت آماری معنی‌دار داشتند که حاکی از وجود تنوع بالا در بین ژنوتیپ‌ها

بود. در جدول شماره (۷) مقایسات میانگین بین ژنوتیپ‌ها انجام شد. در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، ژنوتیپ‌های ترموس ۱۴ و بختگان بالاترین میزان پرولین، مقدار کربوهیدرات‌های محلول و محتوای فنل کل را داشتند. وجود تنوع در ژنوتیپ‌های گیاهان مختلف در اثر تنش در نتایج دیگران نیز گزارش شده است (رمضانی‌مقدم و همکاران، ۲۰۱۳).

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده بر روی ژنوتیپ‌های مورد بررسی

منابع تغییرات	درجه آزادی	پرولین	کربوهیدرات	فنل
آلودگی	۱	۰/۴۹۴۳**	۳۷/۸۱۱۳**	۲/۶۴۵۳**
رقم	۲	۰/۲۵۵۹**	۴۰۰۵/۰۶۴۵**	۱۹/۳۵۶۵**
زمان	۴	۰/۲۰۲۷**	۳۵۴۹/۲۰۹۸**	۵/۸۸۵۲**
آلودگی × رقم	۲	۰/۱۲۱۱**	۴۶/۶۳۳۹**	۰/۳۲۹۰**
آلودگی × زمان	۴	۰/۱۷۴۵**	۷۹۵/۴۱۸۰**	۱/۳۷۴۶**
رقم × زمان	۸	۰/۰۳۳۱**	۲۲۳/۵۶۰۳**	۰/۳۵۰۳**
آلودگی * رقم * زمان	۸	۰/۰۳۱۶**	۶۲/۴۵۲۶**	۰/۲۲۰۵**
خطا	۶۰	۰/۰۰۰۳	۵/۳۱۷۴	۰/۰۰۳۸
CV%	-	۳/۶۷۷۸	۳/۴۴۵۵	۳/۲۱۷۰

NS معنی‌دار نمی‌باشد. * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

جدول ۶- مقایسه میانگین صفات در تیمار سطوح آلودگی

سطوح آلودگی	پرولین	کربوهیدرات	فنل
آلودگی	۰/۲۱۷۳a	۷۶/۷۲۸۹a	۲/۱۰۸۶a
عدم آلودگی	۰/۰۶۹۱b	۶۶/۱۲۳۶b	۱/۷۶۵۷b

جدول ۷- مقایسه میانگین صفات در تیمار سطوح ارقام

رقم	پرولین	کربوهیدرات	فنل
ترموس ۱۴	۰/۲۴۲۰a	۷۹/۶۶۸۰a	۲/۸۰۲۳a
بختگان	۰/۱۲۸۶b	۶۳/۹۸۱۳b	۱/۷۹۴۳b
ورامین	۰/۰۵۹۰c	۵۷/۱۲۹۳c	۱/۲۱۵۰c

جدول ۸- مقایسه میانگین صفات در تیمار سطوح زمان

زمان	پرولین	کربوهیدرات	فنل
۳ روز	۰/۰۵۵۰d	۵۲/۹۶۴۴e	۲/۷۹۵۰a
۶ روز	۰/۰۵۵۰d	۵۵/۸۶۸۹d	۲/۱۷۷۷b
۹ روز	۰/۱۳۰۰c	۶۴/۹۶۲۲c	۱/۸۴۴۴c
۱۲ روز	۰/۳۱۳۳a	۷۳/۲۲۰۰b	۱/۴۳۴۴d
۱۵ روز	۰/۱۶۲۷b	۸۷/۶۱۵۶a	۱/۴۳۴۴d

در جدول (۹) نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل رقم \times آلودگی \times زمان نشان داد تحت شرایط آلودگی میزان پرولین در طول زمان افزایش می‌یابد. بیشترین مقدار آن در ۱۲ روز بعد از آلودگی گیاهان پنبه به قارچ ورتیسیلیوم می‌باشد. بالاترین مقدار در این زمان به ترتیب مربوط به ارقام ترموس ۱۴ و بختگان است. تی زنگ و دوی (۱۹۸۵) در پژوهش پاسخ فیزیولوژیکی پنبه در اثر آلودگی با قارچ پژمردگی ورتیسیلیومی، نشان دادند که غلظت پرولین در روز ۱۲ بعد از آلودگی به بیشترین مقدار رسید. در حالی که در برگ گیاهان شاهد تغییرات مهمی ایجاد نشد. صانعی و رضوی (۲۰۱۷) در تحقیق تاثیر قارچ ورتیسیلیوم بر روی خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گل داوودی، دریافتند که غلظت پرولین در بافت‌های برگ گیاهان تلقیح شده ۲۰ روز پس از تلقیح به طور معنی داری افزایش یافت، در حالی که در برگ گیاهان شاهد تغییری ایجاد نشد. پرولین یکی از رایج ترین املاح سازگار در گیاهان تحت تنش است. چندین عملکرد فیزیولوژیکی ممکن به این تجمع اسید آمینه نسبت داده شده است، مانند تنظیم اسمزی، مخزن انرژی و نیتروژن، سیگنال پیری، و نشانگر مقاومت به خشکی و یا حسگر تنش. مشابه یافته‌های تی‌زنگ و همکاران (۱۹۸۵) در پنبه و گویک‌چله‌آ و همکاران (۲۰۰۰) در فلفل، سطوح پرولین بالاتری در برگ‌های گیاهان آلوده به ورتیسیلیوم نسبت به گروه شاهد مشاهده شد. بنابراین به نظر می‌رسد در گیاهان تلقیح شده، تجمع چنین اسمولیتی با آسیب بیشتر ناشی از قارچ مرتبط باشد. رفتار مشابهی توسط ایریگوین و همکاران (۱۹۹۲) در برگ‌های یونجه در معرض خشکی و گویک‌چله‌آ و همکاران (۲۰۰۰) در برگ‌های فلفل در معرض پژمردگی ورتیسیلیوم مشاهده شد.

در جدول (۹) میزان کربوهیدرات‌های محلول در زمان‌های بعد از تلقیح گیاهان پنبه با قارچ پژمردگی ورتیسیلیومی، به تدریج افزایش یافت به طوری که در روز ۱۵ بعد از آلودگی به بالاترین مقدار رسید. بیشترین مقدار به ترتیب مربوط به ترموس ۱۴ و بختگان بود. تجمع کربوهیدرات‌ها مانند قندها (گلوکز، فروکتوز، فروکتان‌ها و ترهالوز) و نشاسته در شرایط تنش اتفاق می‌افتد. نقش اصلی این کربوهیدرات‌ها در کاهش استرس شامل محافظت اسمزی، ذخیره‌سازی کربن و حذف گونه‌های فعال اکسیژن است (ماهاجان و توتجا، ۲۰۰۵). چنین تجمعی ممکن است ناشی از تبدیل بیشتر نشاسته به قندهای محلول باشد (دالاگنول و همکاران، ۲۰۱۱). نتایج حاضر و همچنین نتایج قبلی نشان می‌دهند که سلول‌های گیاهی ظرفیت زیادی برای تنظیم اسمزی در هنگام قرار گرفتن در معرض تنش دارند.

طبق جدول (۹)، میزان فنل در ۳ روز بعد از تلقیح گیاهان پنبه با قارچ بیشترین مقدار بود و بعد از آن کاهش پیدا کرد. در این زمان بیشترین مقدار فنل به ترتیب مربوط به ارقام ترموس ۱۴ و بختگان بود. نیک رفتار و همکاران (۲۰۱۶) در تحقیق بررسی برخی مکانیسم‌ها در القای مقاومت در

گوجه‌فرنگی علیه قارچ رایزوکتونیا، متوجه شدند که میزان فنل بعد از ۷۲ ساعت در گیاهان تیمار شده با قارچ افزایش و بعد از این زمان کاهش داشت.

به‌طور خلاصه، تغییرات در سطوح پرولین، قند (TSS) و فنل در برگ‌های پنبه ناشی از عفونت با *V. dahliae* به وضوح با اثرات پژمردگی ورتیسیلیوم مطابقت داشت. این نتایج نشان می‌دهد که تغییرات بیوشیمیایی می‌تواند حسگر آسیب ناشی از عفونت قارچی باشد.

جدول ۹- مقایسه میانگین اثرات متقابل آلودگی x ارقام x زمان

سپوع آلودگی	رقم	زمان (روز)	پرولین	فنل	کربوهیدرات
آلودگی	ترموس	۳	۰/۰۶۳۰h	۴/۸۸۰۰a	۵۶/۸۶۶۰gh
آلودگی	بختگان	۳	۰/۰۲۶۰h	۳/۲۰۰۰c	۴۸/۸۶۶۰hi
آلودگی	ورامین	۳	۰/۰۲۰۰h	۲/۲۰۰۰f	۴۵/۹۳۳۰i
آلودگی	ترموس	۶	۰/۰۶۳۰h	۳/۸۲۰۰b	۵۹/۲۰۶۰g
آلودگی	بختگان	۶	۰/۰۲۶۰h	۲/۲۰۰۰f	۵۰/۰۳۳۰hi
آلودگی	ورامین	۶	۰/۰۲۰۰h	۱/۲۰۰۰i	۴۸/۰۳۳۰i
آلودگی	ترموس	۹	۰/۳۵۲۰d	۲/۸۶۰۰d	۷۴/۲۲۶۰de
آلودگی	بختگان	۹	۰/۱۷۳۰f	۱/۵۵۰۰h	۵۹/۰۷۳۰g
آلودگی	ورامین	۹	۰/۰۶۳۰h	۱/۱۰۶۰ij	۵۲/۹۲۰۰hi
آلودگی	ترموس	۱۲	۰/۹۱۳۰a	۲/۱۳۰۰fg	۸۵/۸۶۶۰bc
آلودگی	بختگان	۱۲	۰/۴۸۳۰c	۱/۱۷۰۰i	۶۷/۹۷۳۰f
آلودگی	ورامین	۱۲	۰/۱۷۳۰f	۱j	۵۸/۸۲۰۰
آلودگی	ترموس	۱۵	۰/۵۲۳۰b	۲/۱۳۰۰fg	۱۳۰/۰۷۳۰a
آلودگی	بختگان	۱۵	۰/۲۶۳۰e	۱/۱۷۰۰i	۹۳/۲۲۶۰b
آلودگی	ورامین	۱۵	۰/۰۹۳۰gh	۱j	۷۵/۷۳۳۰de
عدم آلودگی	ترموس	۳	۰/۱۰۶۰g	۲/۷۶۰۰d	۶۱/۸۹۳۰g
عدم آلودگی	بختگان	۳	۰/۰۶۶۰h	۲/۲۰۰۰f	۵۳/۵۸۶۰h
عدم آلودگی	ورامین	۳	۰/۰۴۶۰h	۱/۵۳۰۰h	۵۰/۶۴۰۰hi
عدم آلودگی	ترموس	۶	۰/۱۰۶۰g	۲/۶۲۰۰e	۶۷/۵۸۶۰f
عدم آلودگی	بختگان	۶	۰/۰۶۶۰h	۲/۱۰۶۰fg	۵۶/۷۰۰۰gh
عدم آلودگی	ورامین	۶	۰/۰۴۶۰h	۱/۱۱۳۰ij	۵۳/۶۵۳۰h
عدم آلودگی	ترموس	۹	۰/۰۹۶۰gh	۲/۵۵۰۰e	۷۹/۸۹۳۰d
عدم آلودگی	بختگان	۹	۰/۰۵۶۰h	۲g	۶۵/۰۷۳۰fg
عدم آلودگی	ورامین	۹	۰/۰۳۶۰h	۱j	۵۸/۵۸۶۰gh
عدم آلودگی	ترموس	۱۲	۰/۱۴۶۰fg	۲/۱۳۰۰fg	۹۰/۵۳۳۰bc
عدم آلودگی	بختگان	۱۲	۰/۰۹۶۰gh	۱/۱۷۰۰i	۷۲/۶۴۰۰def
عدم آلودگی	ورامین	۱۲	۰/۰۶۶۰h	۲/۴۸۶۰fg	۶۳/۴۸۶۰fg
عدم آلودگی	ترموس	۱۵	۰/۰۴۶۰h	۲/۱۳۰۰fg	۹۰/۵۳۳۰bc
عدم آلودگی	بختگان	۱۵	۰/۰۲۶۰h	۱/۱۷۰۰i	۷۲/۶۴۰۰def
عدم آلودگی	ورامین	۱۵	۰/۰۲۳۰h	۱j	۶۳/۴۸۶۰fg

منابع

1. Abdel-Maksoud Abada, K., Amany, M.F.A., and Abdel - Latif Zyton, M. 2018. Management of pepper Verticillium wilt by combinations of inducer chemicals for plant resistance, bacterial bioagents and compost. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*, 5(2): 117-127.
2. Aghaei Dargiri, S., Samsampour, D., Askari Seyahoei, M., and Bagheri, A. 2021. The Role of the Fungal Endophyte *Penicillium Chrysogenum* in Tomato Plant under Salinity Stress. *Journal of Crop Breeding*, 38(13): 84-94.
3. Bates, L.S. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.
4. Bejarno-Alcazar, J., Blanco-Lopez, M.A., Melero-Vara, J.M. and Jimenez-Diaz, R.M. 1996. Etiology, Importance, Distribution of Verticillium wilt of cotton in Southern Spain. *Plant Disease*, 80: 1233-1238.
5. Bell, A.A. 2001. Verticillium wilt. Pp: 28-31. In: G.M. Watkinson. *Compendium of Cotton Diseases (2nded)*. APS Press. 87pp.
6. Cai, Y.F., He, X.H., Mo, J.C., Sun, Q., Yang, J. P., and Liu, J.G. 2009. Molecular research and genetic engineering of resistance to Verticillium wilt in cotton: a review. *African Journal of Biotechnology*, 8: 7363-7372.
7. Çelik, S., and Bar, K. 2017. Determination of the response of some cotton varieties to cotton wilt disease caused by Verticillium dahlia Kleb. *Turkish Journal of Agriculture -Food Science and Technology*, 5(12):1488-1492.
8. Cia, E., and Salgado, C.L. 2005. Doenças do algodoeiro (*Gossypium* spp.). In: Kimati, H. Amorim, L. Rezende, JAM. Bergamin Filho, A. and Camargo, LEA. (eds.). *Manual de Fitopatologia: Volume 2,4.ed. Doenças das plantas cultivadas*. (São Paulo: Agronômica Ceres. Pp. 41-52).
9. Culp, T.W., and Green, C.C. 1992. Comparative Performance of obsolete and current cultivars and PD germplasm lines of cotton extrafiber strength. *Crop Sci*, 32: 35-41.
10. Dallagnol, L.J., Rodrigues, F.A., DaMatta, F.M., Mielli, M.V.B., and Pereira, S.C. 2011. Deficiency in silicon uptake affects cytological, physiological, and biochemical events in the rice - *Bipolaris oryzae* interaction. *Phytopathology*, 101: 92-104.
11. Dhingra, O.D., and Sinclair, J.B. 1986. *Basic Plant Pathology Methods*. C.R.C Press. Inc, 355p.
12. 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(3): 350-356.
13. Galbieri, R., Cia, E., Fuzatto, M.G., Ito, M.F., Lüders, R.R. and Kondo, J.I. 2008. Avaliação de genótipos de algodoeiro para resistência a Verticillium

- dahliae [Evaluation of cotton genotypes for resistance to *Verticillium dahliae*]. *Summa Phytopathologica*, 34: 211-215.
14. Goicoechea, N., Garcia - Mina, J.N. and Aguirreolea, J. 2000. *Verticillium dahliae* Modifies the Concentrations of Proline, Soluble Sugars, Starch, Soluble Protein and Abscisic Acid in Pepper Plants. *European Journal of Plant Pathology* 106: 19–25.
 15. Johnson, R.E. 1967. Comparison of methods for estimating cotton leaf area. *Agron.J.*, 59: 493-494.
 16. Klebahn, H. 1913. Beitrage zur Kenntnis der Fungi imperfecti. I. Eine *Verticillium*-Krankheit auf Dahlien. *Mycologisches Centralblatt*, 3: 49-66.
 17. Klosterman, S., Atallah, Z., Vallad, G.E., and Subbarao, K.V. 2009. Diversity, Pathogenicity, and Management of *Verticillium* Species. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 47: 39-62.
 18. Kumar Parida, A., Dagaonkar, V.S., Phalak, M.S., Umalkar, G.V., and Laxman, P.A. 2007. Alterations in photosynthetic pigments, protein and osmotic components in cotton genotypes subjected to shortterm drought stress followed by recovery. *Plant Biotechnology Report*, 1: 37-48.
 19. Irigoyen, J.J., Emerich, D.W., and Sanchez, D.M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiology Plants*, 84:55-60.
 20. Liu, H.P., Dong, B.H., Zhang, Y.Y., Liu, Z.P., and Liu, Y.L. 2004. Relationship between osmotic stress and the levels of free, conjugated and bound polyamines in leaves of wheat seedlings. *Plant Science*, 166: 1261-1267.
 21. Mahajan, S., and Tuteja, N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444: 139-158.
 22. Mahmoud-Janloo, H., and Hoshyarfard, M. 2002. Evaluation of yield, yield components and tolerance to *Verticillium* wilt disease in cultivars and two distinct cotton vessels. Pp.693. In: Abstracts of the 7th Iranian Congress of Agricultural Sciences and Plant Breeding. Mazandaran. (In Persian with English abstract).
 23. Minolta, 1989. Manual for chlorophyll meter SPAD-502. Minolta camera Co., Ltd., Japan.
 24. Navabpour, S., Morris, K., Harrison, E., Makerness, S., and Buchanan - Wollaston, V. 2003. Expression of senescence enhanced genes in response to oxidative stress. *J.Exp.Bot.* 54: 2285-2292.
 25. Qajri, A., and Akram Ghaderi, F. 2006. Effect of distance and row of plant density on yield and yield components of cotton cultivars in Gorgan. *Journal of Agricultural Sciences*, 12: 833- 844. (In Abstract Persian)
 26. Quinn, J., Ford, B., North, A., and Marshall, J. 2016. *Verticillium Wilt: Cotton Seed Distributors*.

29. Ramazani Moghaddam, M.R., Majidi Harvan, E., Azizi, M., Mohammadi, S.A., Anahid, S., Mahdavi, M., and Zangiabadi, M. 2013. Genetic diversity for Na⁺ and K⁺ uptakes and prolin and soluble carbohydrates accumulation in cultivated *Gossypium*'s species under salinity stress. *Iranian Journal of Cotton Researches*, 1(1): 63-77.
30. Sairam, R.K., and Srivastava. G.C. 2001. Water stress tolerance of wheat *Triticum aestivum* L.: Variation in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotype. *Journal Agronomy and Crop Science*, 186: 63-70.
31. Sanei, S.J., Razavi, S.E., and Lotfalinezhad, E. 2013. Epidemiology of cotton Verticillium wilt in Golestan province, the North of Iran. *Ann.Rev.Res.Biol*, 3: 564-573.
32. Sanei, S. J., and Razavi, S.E. 2017. Influence of Defoliate Pathotype of Verticillium dahliae on Some Physiological and Biochemical Characteristics of Chrysanthemum (*Dendranthema grandiflorum* (Ramat.) Kitam). *Journal of Ornamental Plants*, 1(8): 23-33.
33. Shen, Y. 1985. Integrated management of Fusarium and Verticillium wilt of cotton in China. *Crop Protect*, 4: 337-345.
34. Singleton, L.L., Mihail, J.D., and Rush, C.M. 1992. Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi, APS Press. 265pp.
35. Singleton, V.L., and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.
36. Smart, R.E., and Bingham, G.E. 1974. Rapid estimates of relative water content. *Plant Physiology*, 53: 258-260.
37. Tohidfar, M. 2012. Transgenic cotton, scientific aspects and its impact on Iran's economy Developing countries. *New genetics*, 7(1): 1-8.
38. Tzeng, D. D., and DeVay, J.E. 1985. Physiological responses of *Gossypium hirsutum* L. to infection by defoliating and nondefoliating pathotypes of Verticillium dahliae Kleb. *Physiological Plant Pathology*, 26: 57-72.
39. Wei, F., Fan, R., Dong, H., Shang, W., Xu, X., Zhu, H., Yang, J., and Hu, X. 2015. Threshold microsclerotial inoculum for cotton Verticillium wilt determined through wet-sieving and real-time quantitative PCR. *Phytopathology*, 105: 220-229.
40. Wells, R., and Meredith, W.R. 1986. Normal VS Okra leaf yield interactions in cotton. 2 analysis of vegetative and reproductive growth. *Crop Sci*, 26: 223-228.
41. Zeinalzadeh-Tabrizi, H., and Mansouri, S. 2021. Preliminary Evaluation of Yield, Agronomic Characteristics and Response of Sesame Lines to Wilt Disease in Moghan Region. *Journal of Crop Breeding*, 36(12): 180-192.

-
42. Zhang, J., Sanogo, S., Flynn, R., Baral, J., Bajaj, S., Hughs, S.E., and Percy, R. 2012. Germplasm evaluation and transfer of Verticillium wilt resistance from Pima (*Gossypium barbadense*) to Upland cotton (*G. hirsutum*). *Euphytica*, 187: 147-160.

Selection of genotypes susceptible to Verticillium wilt cotton using morphological and physiological characteristics in greenhouse conditions

D. Bayat Tork^{1*}, N. Randeman², M. Razi-Nataj³, M. Taherian⁴

¹PhD student in Plant Protection, Zabol University.

² Associate Professor of Zabol University.

³Agricultural Education and Extension Research Organization, Assistant Professor, National Cotton Research Institute.

⁴Agricultural Education and Extension Research Organization, Assistant Professor

Received: 2021.07.18; Accepted: 2021.11.23

Abstract

Background and objectives: Verticillium wilt disease is one of the most important damaging and limiting factors for cotton production worldwide. This pathogen causes leaf chlorosis, necrosis or wilt, leaf or pollen drop, and even plant death. It also reduces the quantity and quality of the product. Because of the economic importance of the cotton disease Verticillium wilt, the best way to control this disease is to use tolerant varieties. Therefore, breeding resistant varieties in a wide range is considered one of the most effective control methods. This experiment was conducted to determine the effect of the disease on the morphological and physiological characteristics of cotton cultivars in order to identify tolerant genotypes

Materials and methods: The experiment was carried out during two years 2020-2021 and in a factorial form in a completely randomized design with three replications in the greenhouse of Khorasan Razavi Agricultural Education and Natural Resources Research Center (Plant Protection Department). In the first year, ten Iranian cotton cultivars belonging to *Gossypium hirsutum* were cultivated. In the first year experiment, cotton agronomic traits such as plant height, number of leaves, number of branches, crown diameter, leaf area size, disease severity, chlorophyll index, relative leaf water content and electrical conductivity were measured. In the second year, two tolerant cultivars (Bakhtegan) and sensitive

*Corresponding author; dbayat 13@gmail.com

(Varamin) resulting from the first-year experiment were cultivated in the greenhouse along with the resistant cultivar of Thermous 14. At this stage, the amount of proline, soluble carbohydrates and total phenol was evaluated at different times after inoculation with the pathogenic fungus. All traits measured over two years using SAS statistical software were analysis of variance and the means were compared using Duncan's test.

Results: In the first year, it was found that among the ten genotypes grown, all agronomic traits (except plant height) were higher in the Bakhtegan cultivar and lower in the Varamin cultivar than in the other cultivars. Under infection conditions, disease severity was highest in Varamin and Cocker100 cultivars. The lowest severity of the disease was in the variety Bakhtegan. Physiological traits such as chlorophyll index and relative water content were higher in Bakhtegan and lower in Varamin. The opposite was true for membrane electrolyte losses. In the second year, it was found that in the three cultivated genotypes Thermous14 (resistant), Bakhtegan (tolerant), and Varamin (sensitive), the amount of biochemical traits proline, carbohydrate, and total phenol was significantly increased in the infected plants compared to the control plants (no inoculation with pathogenic fungi).

Conclusion: Therefore, plants with more leaves, higher chlorophyll index and relative water content, lower electrolyte leakage, more proline, carbohydrates and phenols are more resistant to infection.

Keywords: Stress, Disease, Agronomic traits, Physiological, Cotton