



Evaluation of the response of different cotton cultivars to Verticillium wilt disease based on agronomic and biochemical indicators

Nima Khaledi^{1*}, Mohammad Razi Nataj Aghamahli², Aidin Hamidi¹,
Saman Sheidaei¹, Farshid Hassani¹

^{1*} Seed and Plant Certification and Registration Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran, Email: n_khaledi@areeo.ac.ir

² Cotton Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Gorgan, Iran

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:

Received: 2025-12-31
Accepted: 2026-03-19

Keywords:

Defense enzymes
Phenolic compounds
Lignin
Genetic resistance

ABSTRACT

Background and objectives: Verticillium wilt is one of the most destructive diseases of cotton, causing significant reductions in yield and fiber quality. Due to the long-term survival of the pathogen in soil, its control is challenging, and the use of tolerant cultivars is considered the most effective management strategy. This study aimed to evaluate the susceptibility of different cotton cultivars to Verticillium wilt and to identify relatively resistant cultivars using agronomic and biochemical indicators.

Materials and methods: This research was conducted both field and greenhouse conditions. In the field, eight cotton cultivars, including six introduced cultivars (May558, Sumer, Milet84, Yildirim63, Ramses, and BA911) and two local cultivars including Golestan (relatively tolerant) and Varamin (susceptible) were grown at the Karkandeh research station under natural infection by soil-borne fungi. The experiment was arranged in a randomized complete block design with three replications, and agronomic traits and yield components were evaluated. Soil populations of the pathogen were measured, and at the end of the vegetative growth stage, fungal isolates were obtained from the stems of different cultivars. The isolates were first identified based on morphological characteristics and molecular analyses, and their pathogenicity was evaluated. The isolate exhibiting the highest disease severity was selected for greenhouse experiments. In the greenhouse, seedlings of different cultivars were artificially inoculated with the selected fungal isolate, and after 40 days, disease incidence and index, growth traits, defense enzyme activities including polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia-lyase, lignin deposition, and total phenolic content were measured.

Results: The causal fungus was identified as *Verticillium dahliae* based on a combination of morphological characteristics and molecular analyses using species-specific primers, confirming it as the primary pathogen in isolates obtained from soil and stems of different cotton cultivars. Pathogenicity tests showed that all isolates

were capable of inducing disease symptoms of varying severity in Varamin seedlings. Significant differences were observed among the cultivars in disease incidence and severity, agronomic traits, and biochemical responses. Varamin exhibited the highest susceptibility, whereas BA911 showed the lowest disease incidence and severity under both greenhouse and field conditions. Fungal inoculation significantly reduced growth traits in all cultivars, although the reduction was less pronounced in BA911, Yildirim63, and MY558. Activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia-lyase, lignin content, and phenolic accumulation increased more rapidly and to higher levels in BA911, Milet84, Yildirim63, Sumer, and May558 compared to the relatively tolerant Golestan and susceptible Varamin and Ramses cultivars.

Conclusion: Based on the results of this study, BA911 was identified as a relatively resistant cultivar to *Verticillium* wilt. The combined use of biochemical indicators and agronomic traits provides an effective tool for assessing the susceptibility of cotton cultivars and can be applied in breeding programs and sustainable disease management strategies.

Cite this article: Khaledi, N., Nataj Aghamahli, M.R., Hamidi, A., Sheidaei, S., Hassani, F. (2025). Evaluation of the response of different cotton cultivars to *Verticillium* wilt disease based on agronomic and biochemical indicators. *Iranian Journal Cotton Researches*, 13 (2), 25-47.



© The author(s)



10.22092/ijcr.2026.372145.1254

Publisher: Cotton
Research Institute of Iran



ارزیابی واکنش ارقام مختلف پنبه به بیماری پژمردگی ورتیسلیومی بر اساس شاخص‌های زراعی و بیوشیمیایی

نیما خالدی^{۱*}، محمد رضی نتاج آقامحلی^۲، آیدین حمیدی^۱، سامان شیدائی^۱، فرشید حسنی^۱

^۱ (نویسنده مسئول) موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران، رایانامه: n_khaledi@areco.ac.ir

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

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>نوع مقاله: مقاله کامل علمی-پژوهشی</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۰/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۲/۲۹</p>	<p>سابقه و هدف: بیماری پژمردگی ورتیسلیومی یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های پنبه است و موجب کاهش عملکرد و کیفیت محصول می‌شود. با توجه به بقای طولانی قارچ در خاک، کنترل آن دشوار بوده و استفاده از ارقام متحمل، مؤثرترین راهکار مدیریتی محسوب می‌شود. هدف این پژوهش، ارزیابی میزان حساسیت ارقام مختلف پنبه به بیماری پژمردگی ورتیسلیومی و شناسایی ارقام نسبتاً مقاوم با بهره‌گیری از شاخص‌های زراعی و بیوشیمیایی انجام شد.</p> <p>مواد و روش‌ها: این تحقیق در دو بخش مزرعه‌ای و گلخانه‌ای انجام شد. در بخش مزرعه، هشت رقم پنبه شامل شش رقم وارداتی (مای ۵۵۸، سومر، میل ۸۴، یلدیریم ۶۳، رامسس و با ۹۱۱) به همراه دو رقم بومی شامل گلستان (نسبتاً متحمل) و ورامین (حساس) در ایستگاه تحقیقاتی کارکنده تحت آلودگی طبیعی قارچ‌های خاکزاد کشت شدند. آزمایش به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد و صفات زراعی و عملکردی مورد ارزیابی قرار گرفت. تراکم جمعیت قارچ در خاک مزرعه اندازه‌گیری شد و در پایان دوره رشد رویشی، جدایه‌های قارچ از ساقه‌های ارقام مختلف جداسازی گردید. این جدایه‌ها ابتدا بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و بررسی‌های مولکولی شناسایی شدند و سپس میزان بیماری‌زایی آن‌ها ارزیابی شد؛ جدایه‌ای که بیشترین شدت بیماری را نشان داد برای آزمایش‌های گلخانه‌ای انتخاب گردید. در بخش گلخانه، گیاهچه‌های ارقام مختلف با جدایه بیمارزای قارچ مایه‌زنی مصنوعی شدند و پس از ۴۰ روز، میزان شاخص و بروز بیماری، صفات رشدی، فعالیت آنزیم‌های دفاعی از جمله پلی‌فنول‌اکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیا لیاز، میزان رسوب لیگنین و محتوای کل ترکیبات فنلی اندازه‌گیری شد.</p> <p>یافته‌ها: شناسایی قارچ عامل بیماری با تلفیق ویژگی‌های ریخت‌شناختی و واکاوی مولکولی مبتنی بر آغازگرهای اختصاصی گونه انجام گرفت و نتایج به دست آمده، <i>Verticillium dahliae</i> را به عنوان عامل اصلی بیماری در جدایه‌های حاصل از خاک و ساقه ارقام مختلف پنبه تأیید نمود. نتایج آزمون بیماری‌زایی نشان داد که تمامی جدایه‌ها قادر به ایجاد علائم بیماری با شدت‌های متفاوت در گیاهچه‌های رقم ورامین بودند. نتایج نشان داد که بین ارقام پنبه از نظر شدت و بروز بیماری، صفات زراعی و پاسخ‌های بیوشیمیایی اختلاف معنی‌دار</p>
<p>واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های دفاعی ترکیبات فنلی لیگنین مقاومت ژنتیکی</p>	

وجود دارد. رقم ورامین بیشترین حساسیت و رقم با ۹۱۱ کمترین میزان بروز و شاخص بیماری را در شرایط گلخانه و مزرعه نشان داد. مایه‌زنی قارچ موجب کاهش معنی‌دار صفات رشدی در تمامی ارقام شد، اما شدت کاهش در ارقام با ۹۱۱، یلدیریم و مای ۵۵۸ کمتر بود. فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنول‌اکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیا‌لیاز، میزان لیگنین و تجمع ترکیبات فنلی در ارقام با ۹۱۱، میل‌ت ۸۴، یلدیریم ۶۳، سومر و مای ۵۵۸ سریع‌تر و در سطح بالاتری نسبت به رقم نسبتاً متحمل گلستان و ارقام حساس ورامین و رامسس افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج این پژوهش، رقم با ۹۱۱ به‌عنوان رقم نسبتاً مقاوم به بیماری پژمردگی ورتیسلیومی معرفی می‌شود. استفاده از شاخص‌های بیوشیمیایی همراه با ارزیابی صفات زراعی، ابزار مناسبی برای تعیین میزان حساسیت ارقام پنبه فراهم می‌کند و می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی و مدیریت پایدار بیماری پژمردگی ورتیسلیومی به‌کار گرفته شود.

استناد: خالدی، نیما؛ نتاج آقامحلی، محمدرضی؛ حمیدی، آیدین؛ شیدائی، سامان؛ حسنی، فرشید (۱۴۰۴). ارزیابی واکنش ارقام مختلف پنبه به بیماری پژمردگی ورتیسلیومی براساس شاخص‌های زراعی و بیوشیمیایی. *مجله پژوهش‌های پنبه/یران*، ۱۳ (۲)، ۴۷-۲۵.



10.22092/ijcr.2026.372145.1254

© نویسندگان

ناشر: موسسه تحقیقات پنبه کشور



مقدمه

پنبه با نام علمی *Gossypium hirsutum* L. گیاهی دولپه‌ای از خانواده پنیرک^۱ یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی و صنعتی جهان محسوب می‌شود که نقش حیاتی در تأمین الیاف صنعت نساجی و تولید روغن گیاهی دارد. در سال زارعی ۲۰۲۵-۲۰۲۴، سطح زیر کشت و تولید جهانی پنبه به ترتیب حدود ۳۰/۹ میلیون هکتار و ۲۶ میلیون تن برآورد شده است (بی‌نام، ۲۰۲۳). در ایران، سطح زیر کشت و میزان تولید پنبه به ترتیب حدود ۹۱ هزار هکتار و ۲۶۵ هزار تن گزارش شده است که بیش از ۹۰ درصد آن در استان‌های خراسان رضوی، فارس، گلستان، اردبیل، خراسان شمالی و خراسان جنوبی اختصاص دارد (بی‌نام، ۲۰۲۴). رشد و عملکرد پنبه تحت تأثیر عوامل زیستی و غیرزیستی مختلفی قرار دارد (کامپوروا و همکاران، ۲۰۲۲). بیماری پژمردگی آوندی ناشی از قارچ همی‌بیوتروف خاکری *Verticillium dahliae* Kleb. یکی از مخرب‌ترین و محدودکننده‌ترین بیماری‌های پنبه در جهان می‌باشد. میانگین خسارت سالیانه پنبه ناشی از بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی حدود ۱۰ تا ۳۵ درصد گزارش شده است (ژو و همکاران، ۲۰۲۱؛ سونگ و همکاران، ۲۰۲۰). این بیمارگر می‌تواند موجب بروز علائم مختلفی همچون زردی برگ‌ها، پژمردگی موضعی یا عمومی، ریزش برگ‌ها یا غوزه‌ها، قهوه‌ای شدن آوندی، بافت مردگی و در نهایت مرگ زودرس در گیاه میزبان شود (لی و همکاران، ۲۰۲۴؛ بیات ترک و همکاران، ۲۰۲۱؛ سونگ و همکاران، ۲۰۲۰).

کنترل بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی به دلیل خاکری بودن قارچ، دامنه‌ی میزبانی وسیع و تولید ریزسختینه‌های مقاوم بسیار دشوار است. مدیریت بیماری شامل استفاده از ارقام متحمل، مدیریت تاریخ و تراکم کاشت، تعادل آبیاری و کوددهی، کنترل علف‌های هرز و رعایت تناوب زراعی می‌باشد. در این

میان، کشت ارقام متحمل به بیماری با صفات زراعی برتر مؤثرترین و اقتصادی‌ترین روش کنترل بیماری محسوب می‌شود (نوریمانگولی و همکاران، ۲۰۲۲). با این حال، تاکنون هیچ‌یک از ارقام پنبه کشت‌شده در کشور مقاومت کامل و پایداری را در برابر این بیماری نشان نداده‌اند (بیات ترک و همکاران، ۲۰۲۱). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که ارقام مختلف پنبه پاسخ متفاوتی به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی از خود نشان می‌دهند (نوریمانگولی و همکاران، ۲۰۲۲؛ بولک و همکاران، ۲۰۰۵)، به طوری که برخی ارقام سطح تحمل قابل توجهی نسبت به این بیماری دارند (آیدوغدو و همکاران، ۲۰۲۵). این تنوع در پاسخ، نه تنها بر شدت بروز بیماری، بلکه روی صفات زراعی مهمی از جمله عملکرد و کیفیت الیاف نیز اثرگذار است (آیله و همکاران، ۲۰۲۰؛ کارادمیر و همکاران، ۲۰۱۲). شواهد حاصل از مطالعات مولکولی و فیزیولوژیکی حاکی از آن است که تنوع واکنش‌های ارقام پنبه، ناشی از تفاوت در فعال‌سازی مسیرهای مکانیسم‌های دفاعی گیاه می‌باشد (ژو و همکاران، ۲۰۲۴). بنابراین، ارزیابی دقیق صفات زراعی ارقام می‌تواند به‌عنوان شاخصی برای تعیین حساسیت نسبی ارقام و شناسایی منابع ژنتیکی مقاوم در برنامه‌های اصلاحی و مدیریت بیماری پنبه مورد استفاده قرار گیرد (وانگ و همکاران، ۲۰۲۵). در کشور به دلیل نبود برنامه‌ی اصلاحی منسجم، تولید و دسترسی به ارقام مقاوم با اطمینان‌زیستی بالا محدود است؛ به‌ویژه آنکه تاکنون رقم زودرسی که از مقاومت پایدار در شرایط مختلف اقلیمی برخوردار باشد معرفی نشده است. بنابراین استفاده از ارقام زودرس تجاری وارداتی که دارای مقاومت نسبی قابل قبول باشند می‌تواند تا حد زیادی از شدت بیماری بکاهد.

پاسخ دفاعی گیاهان در مواجهه با عوامل بیماری‌زا عمدتاً از طریق فعال‌سازی مسیرهای بیوشیمیایی و تولید آنزیم‌های دفاعی و متابولیت‌های ثانویه انجام می‌شود. در پنبه، مسیر فنیل‌پروپانویید نقش محوری در مقاومت به قارچ *V. dahliae* دارد، زیرا با تولید لیگنین و ترکیبات فنلی، دیواره‌های سلولی را تقویت

¹ Malvaceae

گرفت. علاوه بر این، به‌منظور مقایسه واکنش ارقام به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی، ارقام ورامین^۷ و گلستان^۸ به ترتیب به عنوان ارقام حساس و نسبتاً متحمل، در کنار سایر ارقام کشت شدند.

محل اجرای آزمایش و شرایط مزرعه: آزمایش مزرعه‌ای در ایستگاه تحقیقاتی کارکنده در فاصله ۳۵ کیلومتری غرب گرگان، با طول جغرافیایی ۵۴ درجه و ۰۳ دقیقه شرقی، عرض جغرافیای ۳۶ درجه و ۷۷ دقیقه شمالی و ارتفاع متوسط ۱۱ متر از سطح دریا واقع شده است. این ایستگاه تحقیقاتی به دلیل آلودگی طبیعی، پایدار و نسبتاً یکنواخت خاک به عوامل بیماریزای پنبه به‌ویژه عامل پژمردگی ورتیسیلیومی و همچنین فراهم بودن شرایط اقلیمی مساعد برای فعالیت و گسترش این عوامل در سطح مزرعه، به عنوان ایستگاه غربالگری بیماری‌های پنبه شناخته می‌شود (حمیدی و همکاران، ۲۰۲۴؛ عرب‌سلمانی و همکاران، ۲۰۱۱). براساس آمار هواشناسی ایستگاه سینوپتیک گرگان، متوسط بارندگی سالیانه ۵۵۰ تا ۶۰۰ میلی متر گزارش شده است. بافت خاک مزرعه از نوع سیلتی لوم بوده و شامل ۶۵ تا ۸۵ درصد سیلت، ۱۰ تا ۱۵ درصد شن و ۱۴ تا ۲۰ درصد رس می‌باشد. اسیدیته خاک در محدوده ۵/۷ تا ۸ متغیر بود. میانگین دما و میزان بارندگی بارندگی ماهانه طی دوره اجرای آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است.

طرح آزمایشی و عملیات زراعی: آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. عملیات خاک‌ورزی شامل شخم عمیق در فصل پاییز و انجام شخم با عمق متوسط به‌همراه دیسک‌زنی در فصل بهار بود. برنامه کوددهی بر اساس نتایج آزمون خاک تنظیم و اجرا شد و کشت بذر ارقام در نیمه دوم اردیبهشت‌ماه انجام گرفت. هر کرت آزمایشی شامل شش ردیف کاشت به طول شش متر با فاصله ۸۰

کرده و گسترش قارچ عامل پژمردگی ورتیسیلیومی را محدود می‌کند (شابان و همکاران، ۲۰۱۸؛ ژو و همکاران، ۲۰۱۱). علاوه بر این، افزایش فعالیت آنزیم دفاعی پلی‌فنول‌اکسیداز، با مقاومت نسبی پنبه نسبت به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی همراه است و از طریق تقویت دیواره‌های سلولی و کاهش اثرات تنش اکسیداتیو کمک می‌کند (ژانگ و همکاران، ۲۰۲۴الف). همچنین، تجمع ترکیبات فنلی در بافت‌های گیاهی پس از آلودگی، نشان‌دهنده فعال‌سازی پاسخ‌های دفاعی میزبان است (ژو و همکاران، ۲۰۱۱).

با توجه به اهمیت اقتصادی پنبه و خسارت قابل توجه بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی، این پژوهش با هدف بررسی حساسیت ارقام پنبه و شناسایی ارقام مقاوم انجام شد. همچنین تأثیر بیماری روی صفات زراعی از جمله درصد سبز شدن در مزرعه، ارتفاع بوته، تعداد و طول شاخه‌های رویا و زایا، زودرسی، تعداد و وزن قوزه‌ها و عملکرد مورد ارزیابی قرار گرفت. علاوه بر این، فعالیت آنزیم‌های دفاعی، میزان رسوب لیگنین و تجمع ترکیبات فنلی به‌عنوان شاخص‌های بیوشیمیایی، برای سنجش سطح پاسخ‌های مقاومتی ارقام پنبه اندازه‌گیری شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در دو مرحله مجزا، شامل مرحله نخست در مزرعه تحقیقاتی ایستگاه کارکنده برای ارزیابی عملکرد و پاسخ ارقام پنبه تحت شرایط آلودگی طبیعی و مرحله دوم در گلخانه تحقیقاتی موسسه ثبت و گواهی بذر و نهال به‌منظور کنترل دقیق شرایط محیطی و بررسی تکمیلی صفات مورد نظر انجام شد.

مواد گیاهی: در این پژوهش، میزان حساسیت شش ارقام وارداتی پنبه شامل مای ۵۵۸^۱، سومر^۲، میل ۸۴^۳، یلدریم ۶۳^۴، رامسس^۵ و با ۹۱۱^۶ مورد ارزیابی قرار

⁵ Ramses

⁶ BA911

⁷ Varamin

⁸ Golestan

¹ May558

² Sumer

³ Milet84

⁴ Yildirim63

سانتی متر بین ردیف‌ها بود. کاشت بذرها به صورت دستی، روی پشته‌های مجزا، با فاصله ۲۰ سانتی متر روی ردیف و با رعایت عمق کاشت یکنواخت انجام شد.

جدول ۱- متوسط دما و بارندگی محل آزمایش در ماه‌های اجرای آزمایش

شاخص‌ها	اردیبهشت	خرداد	تیر	مرداد	شهریور	مهر	آبان
دما (درجه سلسیوس)	۲۱/۲	۲۵/۵	۲۷/۸	۲۷/۹	۲۴/۸	۱۹/۵	۱۳/۹
بارندگی (میلی متر)	۴۵	۴۱	۲۰	۲۱	۲۷	۴۱	۴۰

درجه چهار آلودگی

صفات زراعی ارزیابی شده در مزرعه: بازدید و یادداشت برداری در مراحل مختلف رشد گیاه صورت پذیرفت و صفات زراعی مورد ارزیابی در این پژوهش شامل درصد سبز شدن در مزرعه، ارتفاع بوته، تعداد و طول شاخه‌های رویا و زایا، زودرسی، تعداد قوزه در بوته، وزن متوسط سی قوزه، عملکرد در چین اول، دوم و کل اندازه‌گیری و ثبت شدند (رحمان و همکاران، ۲۰۲۰).

جداسازی و برآورد جمعیت قارچ عامل بیماری

پژمردگی ورتیسلیومی: جمعیت قارچ عامل بیماری پژمردگی ورتیسلیومی قبل از کاشت و در طول فصل رشد مورد ارزیابی قرار گرفت. از مناطق مختلف مزرعه، نمونه‌های مرکب خاک به وزن یک کیلوگرم از عمق ۳۰-۰ سانتی متری جمع آوری شده و به مدت ۴ تا ۶ هفته در دمای محیط خشک و سپس از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند (شبان و جمالی، ۲۰۱۷؛ عرب‌سلمانی و همکاران، ۲۰۱۴). نمونه‌ای به وزن ۲۰ گرم در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون معلق و با همزن الکتریکی مخلوط شد و مقدار کمی توئین ۸۰ برای یکنواختی سوسپانسیون اضافه گردید. سوسپانسیون حاصل به ترتیب از صافی‌های ۱۲۵ و ۳۷ میکرون عبور داده شد و رسوبات روی صافی ۳۷ میکرون با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد ضدعفونی و در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون معلق شدند. سپس یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون روی سطح پتری دیش حاوی محیط کشت 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

ارزیابی بیماری: چهار ماه بعد از کاشت با حذف

ردیف‌های حاشیه‌ای، قطعه‌ای به ابعاد $1/5 \times 1/5$ مترمربع به صورت تصادفی در هر کرت انتخاب شد. هر بوته در این قطعه بر اساس درصد بروز علائم در برگها و میزان خشکیدگی در پنج سطح (شامل صفر = عدم مشاهده علائم یا بوته کاملاً سالم، ۱ = تا ۳۳ درصد خشکیدگی بافت برگ، ۲ = از ۳۴ تا ۶۶ درصد خشکیدگی بافت برگ، ۳ = از ۶۷ تا ۱۰۰ درصد خشکیدگی بافت برگ و ۴ = بوته کاملاً لخت، بدون برگ و قوزه)، به روش ارائه‌شده توسط چن و همکاران (۲۰۰۸) ارزیابی و گروه‌بندی شد. سپس درصد شاخص (رابطه ۱) و بروز بیماری (رابطه ۲) با استفاده از روابط ذیل محاسبه شد:

$$\text{رابطه ۱} \quad \frac{0n_0 + 1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4}{4N} \times 100$$

$$\text{رابطه ۲} \quad DI = \frac{NDP}{NTP} \times 100$$

n_0 : تعداد بوته‌ها با

درجه صفر آلودگی

n_1 : تعداد بوته‌ها با

درجه یک آلودگی

n_2 : تعداد بوته‌ها با

درجه دو آلودگی

n_3 : تعداد بوته‌ها با

درجه سه آلودگی

n_4 : تعداد بوته‌ها با

DI^1 : درصد بروز بیماری

NDP^2 : تعداد گیاهان دارای علائم بیماری

NTP^3 : تعداد کل گیاهان مورد

ارزیابی

DSI^4 : درصد شاخص بیماری

پژمردگی ورتیسلیومی

N^5 : تعداد کل بوته‌ها

¹ Percentage of disease incidence

² Number of diseased plants

³ Number of total plants

⁴ Disease severity index

⁵ Total number of plants

حاوی محیط کشت مایع عصاره سیب‌زمینی دکستروز^۲ کشت و به مدت ۱۰ روز در دستگاه انکوباتور شیکردار با دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس و سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه انکوبه شدند. توده میسیلیومی حاصل پس از جمع‌آوری، با آب مقطر سترون شستشو داده و آبگیری گردید. استخراج DNA ژنومی با استفاده از کیت تجاری جداسازی^۳ مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. کیفیت و کمیت DNA استخراج شده از طریق الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد و طیف سنجی با دستگاه نانودراب اسپکتروفوتومتری ارزیابی شد. برای تأیید شناسایی مولکولی گونه قارچی، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با استفاده از آغازگرهای اختصاصی (روبه‌جلو^۴: 5'-CGG TGA CAT AAT 3' و برگشتی^۵: 5'-GAC GAT ACT GAG AG-3' و برگشتی^۶: 5'-GCG GAT TGA ACG AA-3') انجام شد (دونگ و همکاران، ۲۰۲۳) که باندی با اندازه مورد انتظار ۵۳۰ جفت‌باز را تکثیر می‌کنند. این واکنش شامل مرحله واسرشت سازی اولیه به مدت ۳ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس، سپس ۳۵ چرخه شامل واسرشته‌سازی 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 در نهایت مرحله گسترش نهایی به مدت ۶ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس بود (اکار و همکاران، ۲۰۲۴). حجم نهایی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برابر ۲۵ میکرولیتر بوده و شامل یک میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای روبه‌جلو و برگشتی، ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس^۶، ۳ میکرولیتر DNA الگو با غلظت تقریبی ۱۰۰ نانوگرم و ۷/۵ میکرولیتر آب دیونیزه (عاری از نوکلئاز) بود. هر آزمایش شامل شاهد منفی (واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بدون DNA الگو) و شاهد مثبت (DNA یک جدایه استاندارد و

میلی‌لیتر، آنتی بیوتیک‌های کلرامفنیکول و سولفات استرپتومایسین ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و پنتاکلرونیتروبنزن ۰/۵ گرم) منتقل شد. پتری‌دیش‌ها در دمای 20 ± 1 درجه سلسیوس و در تاریکی قرار گرفتند. پس از ۱۴ روز، کلنی‌های قارچ شمارش و جمعیت قارچ عامل بیماری بر اساس تعداد پرگنه در هر گرم خاک خشک محاسبه گردید (آشر و همکاران، ۱۹۷۲).

همچنین، در پایان دوره رشد رویشی و به منظور ارزیابی حضور عامل بیماری در گیاه میزبان، ساقه‌ها در ارتفاع بیش از هفت سانتی‌متر از سطح خاک به صورت برش عرضی قطع شدند. به‌منظور جداسازی عامل بیماریزا، کشت مجدد قارچ با استفاده از روش شرح داده شده توسط بک و همکاران (۲۰۰۲) انجام گرفت. از ساقه‌های دارای علائم بیماری قطعاتی به طول ۳ تا ۴ سانتی‌متری بریده و به مدت ۵ دقیقه در اتانول ۹۶ درصد غوطه‌ور شدند. سپس حدود ۰/۵ سانتی‌متر از دو انتهای قطعات حذف شده و بقیه آن به قطعات ۳ تا ۴ میلی‌متری تقسیم و در محیط زاپک داکس آگار^۱ حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر آنتی بیوتیک سولفات استرپتومایسین کشت داده و در دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس و شرایط تاریکی به مدت ۱۴ روز نگه داری شدند تا قارچ رشد یافته و قابل مشاهده گردند.

خالص‌سازی و شناسایی ریخت‌شناختی قارچ:

تهیه کشت خالص قارچ از طریق روش تک اسپور و همچنین با استفاده از کشت نوک ریسه روی محیط کشت زاپک داکس آگار انجام شد (بهات و سوباراو، ۱۹۹۹). شناسایی قارچ بر اساس ویژگی‌های ریخت-شناسی و خصوصیات میکروسکوپی ذکر شده در منابع معتبر (این‌دربیتزین و همکاران، ۲۰۱۱؛ گود و همکاران، ۲۰۰۳) و کلید شناسایی معتبر (بارنت و هانتر، ۱۹۹۸) انجام گرفت.

شناسایی مولکولی: به‌منظور تهیه میسلیوم مورد نیاز جهت استخراج DNA، جدایه‌ی قارچی در ارلن مایر

^۲ Potato Dextrose Broth, Ibresco, Iran

^۳ Genomic DNA isolation kit (Pishgam Biotech, Iran)

^۴ Forward

^۵ Reverse

^۶ 2X PCR Master Mix (Pishgam, Iran)

^۱ Czapek-Dox Agar, Ibresco, Iran

۱×۱۰^۶ اسپور در میلی لیتر آب مقطر سترون حاوی ۰/۰۵ درصد توئین ۸۰ تنظیم و برای مایه زنی استفاده گردید. مایه زنی بر اساس روش دینگرا و سینکلر (۱۹۸۶) در مرحله ۶ تا ۸ برگی و ۲۰ روز از پس از کشت با روش تزریق به ساقه^۲ انجام شد؛ به طوری که ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور با استفاده از سرنگ شماره ۲۳ گیج در محل اتصال برگ به ساقه تزریق گردید. در تیمار شاهد، گیاهان تنها با آب مقطر سترون و بدون سوسپانسیون قارچی مایه زنی شدند (عرب سلمانی، ۲۰۱۴). پس از مایه زنی، گیاهان به مدت ۴۸ ساعت در محفظه‌ای با رطوبت نسبی ۸۰ تا ۸۵ درصد نگهداری شده و سپس به گلخانه با دمای ۲۰ تا ۲۸ درجه سلسیوس منتقل شدند.

ارزیابی شاخص بیماری و صفات زراعی و فیزیولوژیک پنبه: پس از ۴۰ روز، میزان بروز و شاخص بیماری مطابق روش ذکر شده محاسبه شد. همچنین صفات زراعی پنبه از جمله طول گیاهچه، تعداد برگ‌های سالم و شاخه‌های رویا، وزن خشک اندام هوایی و ریشه اندازه‌گیری شدند. علاوه بر این، شاخص‌های فیزیولوژیکی از محتوای کل ترکیبات فنلی، میزان رسوب لیگنین و فعالیت آنزیم‌های پلی فنول اکسیداز و فنیل آلانین آمونیلایز اندازه‌گیری شد (بیات ترک و همکاران، ۲۰۲۱). هر تیمار در هر نوبت اجرای آزمایش شامل چهار تکرار بود و کل آزمایش‌ها در دو نوبت مستقل تکرار گردید.

زمان‌های نمونه برداری برای ارزیابی جنبه‌های بیوشیمیایی برهمکنش ارقام پنبه با *Verticillium dahlia*: نمونه برداری از اندام‌های هوایی (برگ‌های سالم) گیاهچه‌های پنبه در روزهای یکم، سوم، ششم، نهم، دوازدهم و پانزدهم پس از مایه زنی با قارچ *V. dahliae* انجام شد. نمونه‌ها بلافاصله در فریزر با دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری و برای آزمایش‌های بعدی استفاده گردیدند.

شناخته شده از قارچ *V. dahliae* بود. محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد در ولتاژ ۷۰ ولت به مدت ۴۵ دقیقه تفکیک شدند. برای تعیین اندازه باندهای DNA از مارکر وزن مولکولی^۱ استفاده شد. نوارهای DNA پس از رنگ آمیزی با رنگ فلورسنت GelRed[®] مشاهده و عکس برداری شد.

آماده سازی گیاهچه‌های حاصل از نمونه‌های بذری: برای آماده سازی گیاهچه‌های پنبه، تعداد ۱۰۰ عدد بذر از هر رقم مورد ارزیابی در این پژوهش به صورت تصادفی انتخاب شد. به منظور حذف کرک‌های سطحی، بذرها به مدت ۲۰ تا ۳۰ ثانیه در اسید سولفوریک ۹۸ درصد غوطه‌ور و سپس با آب مقطر به طور کامل شستشو شدند (شبابی و جمالی، ۲۰۱۷). پس از آن، برای ضد عفونی سطحی، بذرها به مدت ۲ تا ۳ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد قرار داده شده و پس از آن سه بار با آب مقطر سترون شستشو شدند. بذرها ضد عفونی شده روی کاغذ صافی سترون مرطوب در اتاقک رشد با دمای ۲۵±۱ درجه سلسیوس تا زمان جوانه زنی نگهداری شدند. پس از جوانه زنی، گیاهچه‌ها به گلدان‌های پلاستیکی (با حجم حدود ۳ لیتر) حاوی بستر کشت سترون (شامل خاک رس، ماسه و کود دامی با نسبت حجمی ۱:۱:۱) منتقل و در شرایط دمایی ۲۵±۲ درجه سلسیوس با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با رطوبت نسبی ۶۰ درصد قرار گرفتند (بیات ترک و همکاران، ۲۰۲۱). خاک مورد استفاده در این آزمایش نیز به منظور حذف کامل میکروارگانیسم‌ها، طی دو روز متوالی به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱۰۰ کیلو پاسکال در دستگاه اتوکلاو سترون شد.

آماده سازی زادمایه قارچ و نحوی مایه زنی: زادمایه قارچی بر اساس روش توصیف شده توسط سینگلتون و همکاران (۱۹۹۲) تهیه شد. سوسپانسیون با غلظت

² Stem puncture

¹ 100bp DNA Ladder

فرآیند، سلولز و همی سلولز تجزیه شده و لیگنین، که در اسید نامحلول است، به صورت رسوب جامد باقی می‌ماند. لیگنین باقی‌مانده پس از صاف کردن و شستشو با آب دیونیزه خشک و وزن آن ثبت شد. محتوای لیگنین به صورت درصد وزن بافت خشک^۴ محاسبه شد. محتوای کل ترکیبات فنلی برگ‌های پنبه با استفاده از واکنش فولین - شیکالتو^۵ و مطابق روش شرح داده شده توسط اینزورث و گیلزپی (۲۰۰۷) اندازه‌گیری شد. تغییرات میزان فنل بر اساس منحنی استاندارد گالیک اسید تعیین و نتایج به صورت میکروگرم گالیک اسید در هر گرم بافت تازه^۶ بیان گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

واکاوی آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار (نسخه SAS ۹/۴) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار^۷ در سطح احتمال پنج درصد ($P \leq 0.05$) انجام شد. داده‌های مربوط به شدت بیماری به منظور نرمال‌سازی با استفاده از تبدیل $\sqrt{X + 0.5}$ پردازش شدند و نمودارها مربوطه با استفاده از نرم‌افزار میکروسافت آفیس اکسل ۲۰۱۳^۸ ترسیم شدند.

نتایج و بحث

تراکم جمعیت و شناسایی قارچ *V. dahliae* در خاک مزرعه تحقیقاتی: تراکم جمعیت قارچ عامل بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی در مزرعه تحقیقاتی ایستگاه کارکنده پیش از کاشت، بین ۳ تا ۵ پرگنه در هر گرم خاک خشک و در طول فصل رشد، بین ۶ تا ۸ پرگنه در هر گرم خاک خشک برآورد شد. نتایج این پژوهش نشان داد که تراکم جمعیت قارچ در خاک مزرعه تحقیقاتی ایستگاه کارکنده از پیش از کاشت تا پایان فصل رشد افزایش معنی‌داری داشته است. در

استخراج عصاره و سنجش آنزیم‌های دفاعی
استخراج عصاره آنزیمی مطابق روش گزارش شده توسط صفدر و همکاران (۲۰۲۴) انجام شد. برای این منظور، ۱۵۰ میلی‌گرم از هر نمونه بافت گیاهی در نیتروژن مایع با هاون کاملاً همگن گردید. سپس ۳ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (اسیدیته ۶/۸) به هر نمونه افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس با سرعت ۱۵۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. مایع رویی حاصل به‌عنوان عصاره آنزیمی برای سنجش فعالیت آنزیم‌ها مورد استفاده قرار گرفت. محتوای کل پروتئین هر نمونه با استفاده از روش برادفورد (برادفورد، ۱۹۷۶) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز با استفاده از روش اکسیداسیون کاتکول مطابق روش توصیف شده توسط لی و همکاران (۲۰۱۹) تعیین شد. سنجش فعالیت آنزیم بر اساس افزایش جذب نوری ناشی از اکسیداسیون کاتکول در طول موج ۴۲۰ نانومتر انجام گرفت و نتایج بر حسب واحد آنزیم در هر میلی‌گرم پروتئین^۱ گزارش شد. فعالیت آنزیم فنیل‌آلانیل آمونیاپاز، به‌عنوان آنزیم کاتالیزکننده تبدیل ال- فنیل آلانین به اسید ترانس سینامیک، مطابق روش گزارش شده توسط دوبری و اسمیت (۱۹۹۴) اندازه‌گیری شد. سنجش فعالیت آنزیم بر اساس تعیین مقدار اسید ترانس سینامیک تشکیل شده و پایش جذب نوری آن در طول موج ۲۹۰ نانومتر انجام گرفت و نتایج به صورت نانو مول ترانس سینامیک اسید تولید شده در دقیقه به ازای میلی‌گرم پروتئین^۲ بیان شد.

ارزیابی تغییرات میزان لیگنین و ترکیبات فنلی:
جهت تعیین محتوای کل لیگنین در نمونه‌های پنبه، از روش کلاسون^۳ مطابق روش توصیف شده توسط هتفیلد و فوکوشیما (۲۰۰۵) استفاده شد. در این روش، نمونه‌ها تحت هیدرولیز شدید با اسید سولفوریک غلیظ (۷۲ درصد) قرار گرفتند؛ طی این

^۴ % DW (Dry weight)

^۵ Folin-Ciocalteu

^۶ $\mu\text{g GAE g}^{-1}\text{ FW}$ (Fresh weight)

^۷ Least significant difference (LSD)

^۸ Microsoft Office Excel 2013

^۱ U PPO mg^{-1} protein

^۲ nmol trans-cinnamic acid min^{-1} mg^{-1} protein

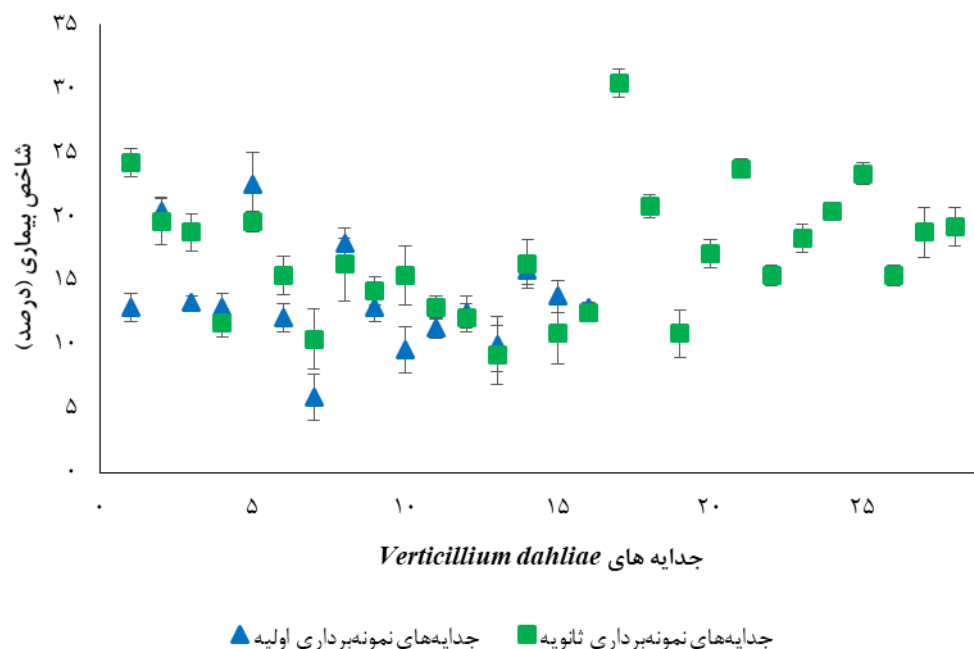
^۳ Klason

(حمیدی و همکاران، ۲۰۲۴؛ عرب‌سلمانی و همکاران، ۲۰۱۱).

ارزیابی بیماری‌زایی جدایه‌های *V. dahliae* روی گیاهچه‌های پنبه: مقایسه داده‌های حاصل از آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های مختلف *V. dahliae* جداسازی شده از خاک مزرعه نشان داد که تمامی جدایه‌های شناسایی شده روی گیاهچه‌های پنبه رقم ورامین بیماریزا بوده و قادر به ایجاد علائم زردی برگ‌ها و پژمردگی آوندی می‌باشند. بر اساس نتایج، اختلاف معنی‌داری از نظر شاخص بیماری بین جدایه‌های مختلف مشاهده شد (شکل ۱). نتایج آزمون‌های بیماری‌زایی نشان داد که شاخص بیماری جدایه‌های حاصل از نمونه‌برداری اولیه در دامنه‌ی $1/82 \pm 8/83$ درصد تا $2/50 \pm 22/50$ درصد و شاخص بیماری جدایه‌های حاصل از نمونه‌برداری ثانویه در دامنه‌ی $9/17 \pm 2/32$ درصد تا $30/42 \pm 1/10$ درصد قرار داشتند (شکل ۱).

مجموع، طی نمونه‌برداری‌های انجام‌شده از خاک مزرعه تحقیقاتی ایستگاه کارکنده، ۴۴ جدایه قارچی جمع‌آوری شد. سائنی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که تراکم جمعیت قارچ عامل بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی در مزارع پنبه استان گلستان طی دوره ۹ ساله بین ۲ تا ۴۷ پرگنه در هر گرم خاک خشک متغیر بوده است. افزایش تراکم جمعیت قارچ همچنین نشان می‌دهد که اتخاذ استراتژی‌های مناسب کاشت، اجرای تناوب زراعی و مدیریت بهینه خاک می‌تواند نقش مهمی در کاهش میزان بروز بیماری ایفا کند.

شناسایی گونه‌های قارچی جداسازی‌شده بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و میکروسکوپی و با استفاده از منابع و کلیدهای شناسایی معتبر، انجام شد. افزون بر این، شناسایی گونه‌ی *V. dahliae* با استفاده از واکاوی مولکولی و به‌کارگیری آغازگرهای اختصاصی گونه تأیید شد. یافته‌های حاضر با مشاهدات پیشین پژوهشگران در ارزیابی حساسیت ارقام پنبه به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی در ایستگاه تحقیقاتی کارکنده مطابقت داشته و عامل بیماری، به‌طور قطعی تأیید شد.



شکل ۱- شاخص بیماری‌زایی جدایه‌های مختلف *Verticillium dahliae* حاصل از نمونه‌برداری‌های

اولیه (▲) و ثانویه (■) خاک مزرعه تحقیقاتی روی گیاهچه‌های پنبه رقم ورامین

باشد و با نتایج گزارش‌شده توسط ژانگ و همکاران (۲۰۲۴الف) در پژوهش انجام شده روی جدایه‌های

اختلافات مشاهده‌شده در توان بیماری‌زایی می‌تواند ناشی از تفاوت‌های ژنتیکی میان جدایه‌ها

قرار داشت (جدول ۲). کاهش طول گیاهچه بین ۸ (رقم با ۹۱۱) تا ۱۴ درصد (ارقام ورامین و مای ۵۵۸)، تعداد برگ‌های سالم بین ۱۵ (ارقام با ۹۱۱ و سومر) تا ۴۶ درصد (رقم ورامین)، تعداد شاخه‌های رویا بین ۱۴ (رقم با ۹۱۱) تا ۵۰ درصدی (رقم ورامین)، وزن خشک اندام هوایی بین ۴۴ (ارقام گلستان و میل ۸۴) تا ۴۹ درصد (ارقام ورامین، رامسس و مای ۵۵۸) و وزن خشک ریشه بین ۲۵ (رقم گلستان) تا ۳۴ درصد (رقم ورامین) مشاهده شد. به طور کلی، صفات زراعی ارقام مورد مطالعه نسبت به رقم حساس ورامین از حساسیت کمتری به قارچ *V. dahliae* برخوردار بودند و سطح متفاوتی از مقاومت نسبی را نشان دادند.

آلودگی مصنوعی گیاهان به قارچ *V. dahliae* تأثیر منفی و معنی‌داری روی تمامی صفات زراعی مورد ارزیابی داشت و موجب کاهش طول گیاهچه، تعداد برگ‌های سالم و شاخه‌های رویشی، وزن خشک اندام هوایی و ریشه شد. این کاهش رشد رویشی را می‌توان به اختلال در عملکرد سیستم آوندی، انسداد آوندهای چوبی و کاهش انتقال آب و عناصر غذایی نسبت داد که از مهم‌ترین سازوکارهای بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی محسوب می‌شوند که منجر به افت نرخ فتوسنتز، محدود شدن تولید ماده خشک و در نهایت کاهش وزن اندام هوایی و ریشه‌ها می‌شود (فرادین و توما، ۲۰۰۶). گزارش‌ها نشان داده‌اند که شدت بیماری ورتیسیلیومی به‌طور مستقیم با کاهش صفات رشدی و وزن خشک در پنبه ارتباط دارد و ارقام مختلف بسته به سطح مقاومت یا حساسیت، واکنش‌های متفاوتی به آلودگی نشان می‌دهند (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۲). در مجموع، نتایج این پژوهش همسو با مطالعات پیشین بیانگر آن است که بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی یکی از عوامل محدودکننده اصلی رشد رویشی پنبه بوده و می‌تواند از طریق کاهش کارایی فیزیولوژیک گیاه، تولید زیست‌توده و در نهایت عملکرد بالقوه ارقام پنبه را به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار دهد (فرادین و توما، ۲۰۰۶).

V. dahliae جداسازی شده از پنبه مطابقت دارد، که نشان دادند جدایه‌های مختلف این قارچ قادر به ایجاد شدت متفاوتی از علائم بیماری هستند. این تنوع در بیماری‌زایی جدایه‌ها، اهمیت تشخیص و مدیریت جدایه‌های خاص قارچ را افزایش می‌دهد و نشان می‌دهد که مدیریت بیماری نمی‌تواند با یک استراتژی واحد برای همه جدایه‌ها انجام شود.

تأثیر آلودگی به *V. dahliae* بر صفات زراعی ارقام پنبه: مقایسه میانگین برخی صفات زراعی پنبه در ارقام مختلف نشان داد که تفاوت معنی‌داری از نظر طول گیاهچه، تعداد برگ‌های سالم، تعداد شاخه‌های رویا، وزن خشک اندام هوایی و ریشه وجود دارد و میزان این صفات با توجه به رقم متفاوت بود (جدول ۲). در ارزیابی گلخانه‌ای، میانگین طول گیاهچه در ارقام مورد مطالعه بین ۲۴/۰ تا ۴۴/۶ سانتی‌متر، میانگین تعداد برگ‌های سالم بین ۴/۳ تا ۷/۳، میانگین تعداد شاخه‌های رویا بین ۱/۷ تا ۲/۳، میانگین وزن خشک اندام هوایی بین ۰/۲۲۷ تا ۱/۱۴۱ گرم و وزن خشک ریشه بین ۰/۰۸۸ تا ۰/۲۵۴ گرم متغیر بود (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین صفات زراعی ارقام مختلف پنبه تحت شرایط غیرآلوده گلخانه‌ای نشان داد که بین ارقام از نظر طول گیاهچه، تعداد برگ‌های سالم، تعداد شاخه‌های رویشی، وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک ریشه اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بروز این تفاوت‌ها را می‌توان به تنوع ژنتیکی قابل‌توجه میان ارقام مورد بررسی نسبت داد که منجر به تفاوت در الگوی رشد، تخصیص زیست‌توده و کارایی استفاده از منابع در شرایط کنترل‌شده می‌شود (فانگ و همکاران، ۲۰۱۴؛ اقبال و همکاران، ۲۰۰۱).

در تیمارهای مایه‌زنی شده با قارچ *V. dahliae*، میانگین طول گیاهچه بین ۲۱/۳ تا ۴۰/۳ سانتی‌متر، میانگین تعداد برگ‌های سالم بین ۲/۳ تا ۶/۰، میانگین تعداد شاخه‌های رویا بین ۱/۰ تا ۲/۰، میانگین وزن خشک اندام هوایی بین ۰/۱۱۶ تا ۰/۶۲۰ گرم و وزن خشک ریشه بین ۰/۰۵۸ تا ۰/۱۷۹ گرم

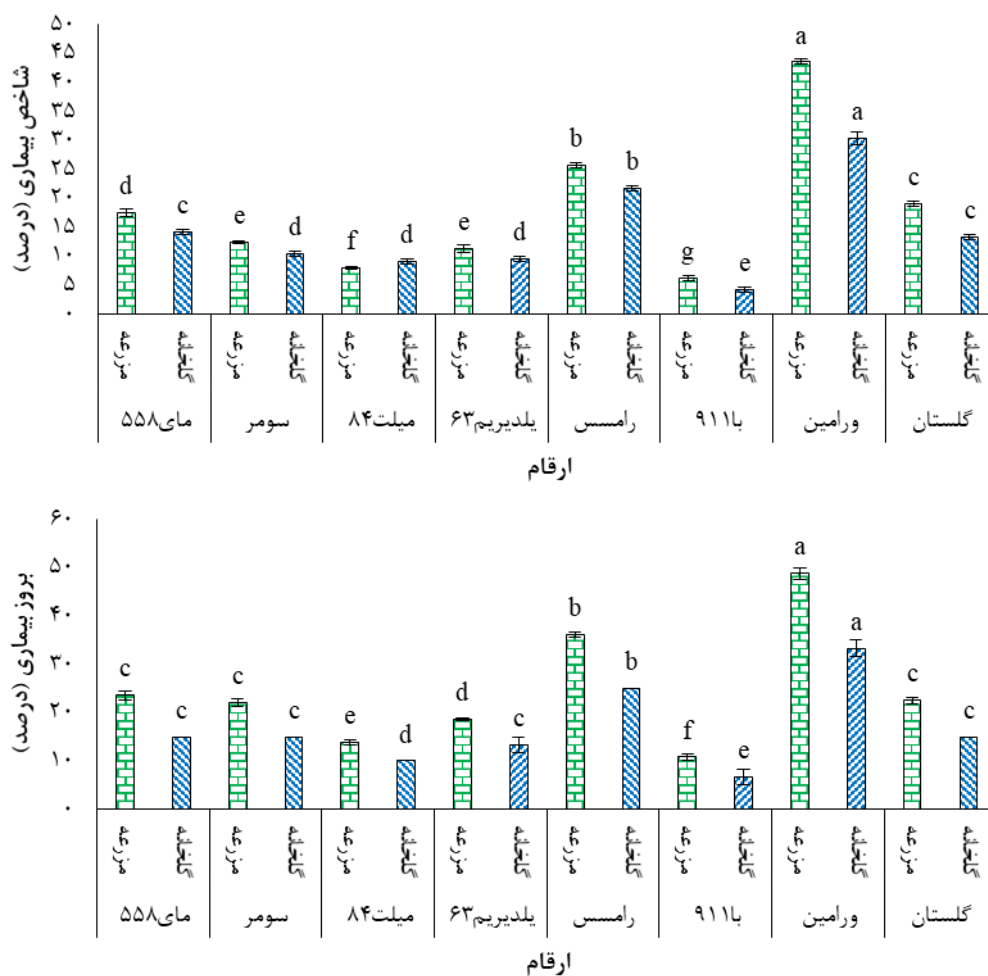
جدول ۲- مقایسه صفات زراعی ارقام پنبه در گلخانه تحت شرایط آلوده و غیر آلوده به قارچ *Verticillium dahliae*

شرایط غیر آلوده (تیمار شاهد)					
ارقام	طول گیاهچه (سانتی متر)	تعداد برگ سالم	تعداد شاخه رویا	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)
مای ۵۵۸	۳۳/۰ ± ۰/۵ e	۴/۷ ± ۰/۳ c	۲/۰ ± ۰/۰ ab	۱/۰۵۲ ± ۰/۰۱۴ b	۰/۱۷۳ ± ۰/۰۰۳ bc
سومر	۴۱/۰ ± ۰/۶ b	۶/۷ ± ۰/۳ a	۲/۰ ± ۰/۰ ab	۰/۹۴۳ ± ۰/۰۱۸ c	۰/۱۷۹ ± ۰/۰۰۲ bc
میلت ۸۴	۳۷/۳ ± ۰/۳ c	۵/۷ ± ۰/۳ b	۲/۰ ± ۰/۰ ab	۰/۸۶۱ ± ۰/۰۱۹ d	۰/۱۷۶ ± ۰/۰۰۵ bc
یلدیریم ۶۳	۲۴/۰ ± ۰/۰ g	۵/۰ ± ۰/۰ bc	۱/۷ ± ۰/۳ b	۱/۰۹۳ ± ۰/۰۰۴ b	۰/۱۸۷ ± ۰/۰۰۱ b
رامسس	۴۴/۶ ± ۰/۳ a	۷/۳ ± ۰/۳ a	۲/۰ ± ۰/۰ ab	۰/۲۵۱ ± ۰/۰۱۵ e	۰/۱۰۹ ± ۰/۰۰۳ d
با ۹۱۱	۴۱/۷ ± ۰/۳ b	۶/۷ ± ۰/۳ a	۲/۳ ± ۰/۳ a	۱/۱۴۱ ± ۰/۰۱۶ a	۰/۲۵۴ ± ۰/۰۱۲ a
ورامین	۳۵/۳ ± ۰/۳ d	۴/۳ ± ۰/۳ c	۲/۰ ± ۰/۰ ab	۰/۲۲۷ ± ۰/۰۱۷ e	۰/۰۸۸ ± ۰/۰۰۶ e
گلستان	۲۷/۰ ± ۰/۶ f	۵/۰ ± ۰/۰ bc	۱/۷ ± ۰/۳ b	۰/۸۳۰ ± ۰/۰۱۰ d	۰/۱۶۶ ± ۰/۰۰۹ c
LSD 5%	۱/۲۷	۰/۸۷	۰/۶۱	۰/۰۴۵	۰/۰۱۸
مای ۵۵۸	۲۸/۳ ± ۰/۶ e	۲/۷ ± ۰/۳ c	۱/۳ ± ۰/۳ ab	۰/۵۳۹ ± ۰/۰۰۴ c	۰/۱۲۴ ± ۰/۰۰۲ b
سومر	۳۷/۳ ± ۰/۶ b	۵/۷ ± ۰/۳ a	۱/۷ ± ۰/۳ ab	۰/۵۱۴ ± ۰/۰۰۶ d	۰/۱۲۸ ± ۰/۰۰۳ b
میلت ۸۴	۳۲/۳ ± ۰/۳ c	۴/۷ ± ۰/۳ b	۱/۳ ± ۰/۳ ab	۰/۴۷۷ ± ۰/۰۱۰ e	۰/۱۲۴ ± ۰/۰۰۳ b
یلدیریم ۶۳	۲۱/۳ ± ۰/۳ g	۴/۰ ± ۰/۰ b	۱/۳ ± ۰/۳ ab	۰/۵۸۳ ± ۰/۰۰۶ b	۰/۱۳۰ ± ۰/۰۰۲ b
رامسس	۴۰/۳ ± ۰/۳ a	۶/۰ ± ۰/۰ a	۱/۷ ± ۰/۳ ab	۰/۱۲۹ ± ۰/۰۰۳ f	۰/۰۷۴ ± ۰/۰۱۰ c
با ۹۱۱	۳۸/۳ ± ۰/۳ b	۵/۷ ± ۰/۳ a	۲/۰ ± ۰/۰ a	۰/۶۲۰ ± ۰/۰۱۲ a	۰/۱۷۹ ± ۰/۰۰۳ a
ورامین	۳۰/۳ ± ۰/۳ d	۲/۳ ± ۰/۳ c	۱/۰ ± ۰/۰ b	۰/۱۱۶ ± ۰/۰۰۴ f	۰/۰۵۸ ± ۰/۰۰۴ d
گلستان	۲۴/۷ ± ۰/۳ f	۴/۰ ± ۰/۰ b	۱/۳ ± ۰/۳ ab	۰/۴۵۸ ± ۰/۰۱۳ e	۰/۱۲۳ ± ۰/۰۰۲ b
LSD 5%	۱/۶۹	۰/۷۹	۰/۸۶	۰/۰۲۵	۰/۰۱۳

نشان دادند. هیچکدام از ارقام مورد بررسی مقاومت کامل نشان ندادند. میزان حساسیت ارقام با ۹۱۱، مای ۵۵۸، یلدیریم ۶۳ و سومر کمتر از رقم نسبتاً متحمل گلستان بوده و نشان دهنده سطوح بالاتر مقاومت است. نتایج نشان داد که رقم با ۹۱۱ در مقایسه با سایر ارقام، به ویژه رقم گلستان، نسبت به قارچ عامل پژمردگی ورتیسلیومی حساسیت کمتری در شرایط آلودگی طبیعی و مصنوعی نشان داد و می‌تواند به عنوان رقم نسبتاً مقاوم گزارش شود (شکل ۲).

تفاوت واکنش ارقام به آلودگی بیانگر وجود تنوع ژنتیکی قابل توجهی میان ارقام پنبه است که می‌تواند به بروز سطوح متفاوتی از مقاومت نسبی علیه قارچ *V. dahliae* منجر شود. یافته‌های این پژوهش با گزارش‌های دیگر محققان در مورد نقش ویژگی‌های ژنتیکی در تعدیل شدت بیماری و کاهش اثرات منفی بیماری روی رشد گیاه مطابقت دارد (آینی و همکاران، ۲۰۲۲؛ ژائو و همکاران، ۲۰۲۱).

مقایسه حساسیت ارقام پنبه به *V. dahliae* در شرایط گلخانه و مزرعه (در محیط‌های کنترل شده و طبیعی): نتایج ارزیابی حساسیت هشت رقم پنبه به جدایه بیماریزای VDIb67 قارچ *V. dahliae* در شرایط گلخانه و همچنین مزرعه تحقیقاتی ایستگاه کارکنده که تحت آلودگی طبیعی به عوامل بیماریزای خاکزی به‌ویژه عامل پژمردگی ورتیسلیومی قرار داشت، نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطوح حساسیت ارقام مختلف وجود دارد (شکل ۲). ارزیابی میزان حساسیت ارقام در گلخانه و مزرعه تحقیقاتی نشان داد که رقم با ۹۱۱ کمترین میزان بروز و شاخص بیماری را داشت؛ به طوری که در گلخانه، بروز و شاخص بیماری به ترتیب ۱/۷ ± ۰/۴ و ۴/۲ ± ۰/۴ درصد و در مزرعه به ترتیب ۰/۶ ± ۰/۸ و ۶/۲ ± ۰/۵ درصد گزارش شد (شکل ۲). ارقام مورد مطالعه از نظر حساسیت به بیماری پژمردگی ورتیسلیومی بین رقم‌های ورامین و با ۹۱۱ قرار گرفتند و سطوح مختلفی از حساسیت را



شکل ۲- مقایسه شاخص و میزان بروز بیماری پژمردگی ورتیسلیومی روی ارقام مختلف پنبه در شرایط مزرعه (■) و گلخانه (■)

بازدیدهای انجام شده نشان داد که درصد نهایی سبز شدن مزرعه در ارقام پنبه از ۸۳/۱ تا ۹۰/۳ درصد متغیر بود. میانگین ارتفاع بوته‌ها بین ۱۰۵/۷ تا ۱۱۳ سانتی‌متر متغیر بود و رقم رامس بیشترین ارتفاع را در مقایسه با سایر ارقام نشان داد (جدول ۳). میانگین طول شاخه‌های رویا از ۳۱/۷ تا ۵۶/۷ سانتی‌متر و شاخه‌های زایا از ۲۲/۰ تا ۳۲/۰ سانتی‌متر متغیر بود، در حالی که میانگین تعداد شاخه‌های رویا بین ۳ تا ۴ و شاخه‌های زایا بین ۱۱ تا ۱۶ عدد گزارش شد (جدول ۳). بالاترین نسبت شاخه‌های زایا به شاخه‌های رویا متعلق به رقم ۹۱۱ با بود و پس از آن به ترتیب ارقام یلدریم ۶۳، مای ۵۵۸، سومر، گلستان، میل ۸۴، رامس و ورامین قرار داشت.

ارزیابی صفات زراعی و عملکرد ارقام پنبه تحت شرایط آلودگی طبیعی به پژمردگی ورتیسلیومی: ارقام پنبه به منظور ارزیابی صفات زراعی از جمله درصد سبز شدن در مزرعه، ارتفاع بوته، تعداد و طول شاخه‌های رویا و زایا، زودرسی، تعداد قوزه در بوته، وزن متوسط ۳۰ قوزه و عملکرد در چین اول، دوم و کل، در مزرعه تحقیقاتی ایستگاه کارکنده تحت آلودگی طبیعی به عوامل بیماری‌زای خاکزی به‌ویژه عامل پژمردگی ورتیسلیومی کشت شدند. ارقام پنبه از نظر این صفات در گروه‌های آماری مختلف مورد ارزیابی قرار گرفتند و بر اساس آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد اختلاف معنی‌دار نشان دادند (جدول ۳).

دیررس‌ترین ارقام بودند. میانگین عملکرد چین اول از ۶۳۳/۰ تا ۸۸۸/۷ کیلوگرم در هکتار، عملکرد چین دوم از ۱۳۴/۷ تا ۱۶۱/۷ گرم کیلوگرم در هکتار و در نهایت عملکرد کل از ۷۶۷/۷ تا ۱۰۴۹/۷ کیلوگرم در هکتار متغیر بود (جدول ۳). به طور کلی رقم با ۹۱۱ از نظر عملکرد چین اول و کل نسبت به سایر ارقام و ارقام مورد مطالعه برتری معنی‌دار داشت.

تعداد قوزه در بوته بین ۱۱ تا ۱۶ قوزه در تکرارهای مختلف و میانگین وزن ۳۰ قوزه بین ۱۱۲/۷ تا ۱۴۲/۱ گرم متغیر بود (جدول ۳). مقایسه میانگین‌های وزن و تعداد قوزه‌ها نشان داد که رقم با ۹۱۱ از نظر این شاخص‌ها نسبت به سایر ارقام برتری معنی‌دار دارد. ارزیابی میزان زودرسی نشان داد که رقم با ۹۱۱ زودرس‌ترین و ارقام رامسس و ورامین

جدول ۳- مقایسه میانگین صفات زراعی کمی ارقام پنبه تحت آلودگی طبیعی در مزرعه تحقیقاتی کارکنده

ارقام	درصد سبز مزرعه	ارتفاع بوته (سانتی متر)	تعداد شاخه رویا	طول شاخه رویا (سانتی‌متر)	تعداد شاخه زایا	طول شاخه زایا (سانتی متر)
مای ۵۵۸	۹۰/۳ ± ۰/۵ a	۱۱۰/۳ ± ۰/۳ c	۳/۷ ± ۰/۳ ab	۵۶/۷ ± ۰/۷ a	۱۳/۷ ± ۰/۳ b	۲۸/۷ ± ۰/۳ c
سومر	۸۷/۲ ± ۰/۴ b	۱۱۲/۳ ± ۰/۸ ab	۳/۳ ± ۰/۳ ab	۴۹/۰ ± ۰/۶ c	۱۲/۳ ± ۰/۳ cd	۲۴/۳ ± ۰/۳ d
میلت ۸۴	۸۴/۴ ± ۰/۵ c	۱۱۱/۳ ± ۰/۹ abc	۳/۷ ± ۰/۳ ab	۴۷/۳ ± ۰/۳ d	۱۲/۷ ± ۰/۳ bc	۲۴/۰ ± ۰/۰ d
یلدیریم ۶۳	۸۳/۶ ± ۰/۳ cd	۱۰۵/۷ ± ۰/۷ d	۳/۰ ± ۰/۰ b	۳۱/۷ ± ۰/۸ f	۱۱/۷ ± ۰/۳ cd	۳۰/۰ ± ۰/۰ b
رامسس	۹۰/۲ ± ۰/۶ a	۱۱۳/۰ ± ۰/۰ a	۳/۳ ± ۰/۳ ab	۵۴/۷ ± ۰/۳ b	۱۱/۳ ± ۰/۳ d	۲۲/۷ ± ۰/۳ e
با ۹۱۱	۸۵/۸ ± ۰/۳ b	۱۱۲/۷ ± ۰/۳ ab	۴/۰ ± ۰/۰ a	۵۱/۶ ± ۰/۹ c	۱۵/۷ ± ۰/۳ a	۳۲/۰ ± ۰/۵ a
ورامین	۸۶/۴ ± ۰/۵ b	۱۱۱/۰ ± ۰/۶ bc	۳/۷ ± ۰/۳ ab	۴۴/۳ ± ۰/۳ e	۱۲/۳ ± ۰/۳ cd	۲۲/۰ ± ۰/۶ e
گلستان	۸۳/۱ ± ۰/۱ d	۱۰۶/۰ ± ۰/۵ d	۳/۳ ± ۰/۳ ab	۴۳/۰ ± ۰/۶ e	۱۲/۰ ± ۰/۶ cd	۲۷/۷ ± ۰/۳ c
LSD 5%	۱/۳۷	۱/۸۰	۰/۸۶	۱/۸۳	۱/۱۲	۱/۱۱
مای ۵۵۸	۱۷/۳ ± ۰/۳ ab	۱۳۹/۸ ± ۰/۹ b	۸۳/۸ ± ۰/۰ bc	۸۲۵/۰ ± ۱/۵ c	۱۵۹/۷ ± ۰/۳ ab	۹۸۴/۷ ± ۱/۸ c
سومر	۱۶/۷ ± ۰/۳ b	۱۲۹/۴ ± ۰/۶ d	۸۳/۷ ± ۰/۱ c	۸۱۲/۷ ± ۰/۹ d	۱۵۸/۷ ± ۰/۳ bc	۹۷۱/۶ ± ۱/۲ d
میلت ۸۴	۱۵/۳ ± ۰/۳ c	۱۲۶/۶ ± ۰/۵ e	۸۳/۳ ± ۰/۰ d	۷۳۶/۳ ± ۱/۳ f	۱۴۸/۰ ± ۱/۰ d	۸۸۴/۳ ± ۲/۳ f
یلدیریم ۶۳	۱۷/۳ ± ۰/۳ ab	۱۴۰/۹ ± ۰/۲ ab	۸۴/۱ ± ۰/۱ b	۸۴۵/۷ ± ۱/۷ b	۱۶۱/۷ ± ۰/۳ a	۱۰۰۷/۳ ± ۲/۰ b
رامسس	۱۴/۳ ± ۰/۳ d	۱۱۵/۳ ± ۰/۶ f	۸۲/۴ ± ۰/۱ e	۶۸۲/۳ ± ۵/۲ g	۱۴۶/۳ ± ۱/۲ d	۸۲۸/۷ ± ۶/۴ g
با ۹۱۱	۱۷/۷ ± ۰/۳ a	۱۴۲/۱ ± ۰/۹ a	۸۴/۳ ± ۰/۱ a	۸۸۸/۷ ± ۲/۷ a	۱۶۱/۰ ± ۰/۶ ab	۱۰۴۹/۷ ± ۳/۲ a
ورامین	۱۳/۷ ± ۰/۳ d	۱۱۲/۷ ± ۰/۱ g	۸۲/۴ ± ۰/۱ e	۶۳۳/۰ ± ۱/۱ h	۱۳۴/۷ ± ۱/۴ e	۷۶۷/۷ ± ۲/۳ h
گلستان	۱۵/۷ ± ۰/۳ c	۱۳۵/۲ ± ۰/۹ c	۸۳/۴ ± ۰/۱ d	۷۸۸/۷ ± ۰/۹ e	۱۵۷/۰ ± ۰/۰ c	۹۴۵/۷ ± ۰/۹ e
LSD 5%	۰/۹۹	۲/۰۲	۰/۱۷	۷/۱۱	۲/۴۲	۹/۰۴

ترکیبات واکنش‌پذیر، موجب افزایش تجمع ترکیبات فنلی و لیگنین می‌شود و نقش قابل توجهی در محدود کردن پیشروی قارچ *V. dahliae* و افزایش مقاومت پنبه نسبت به بیماری پژمردگی ورتیسلیومی دارد (ژانگ و همکاران، ۲۰۲۴الف؛ ژانگ و همکاران، ۲۰۲۴ب).

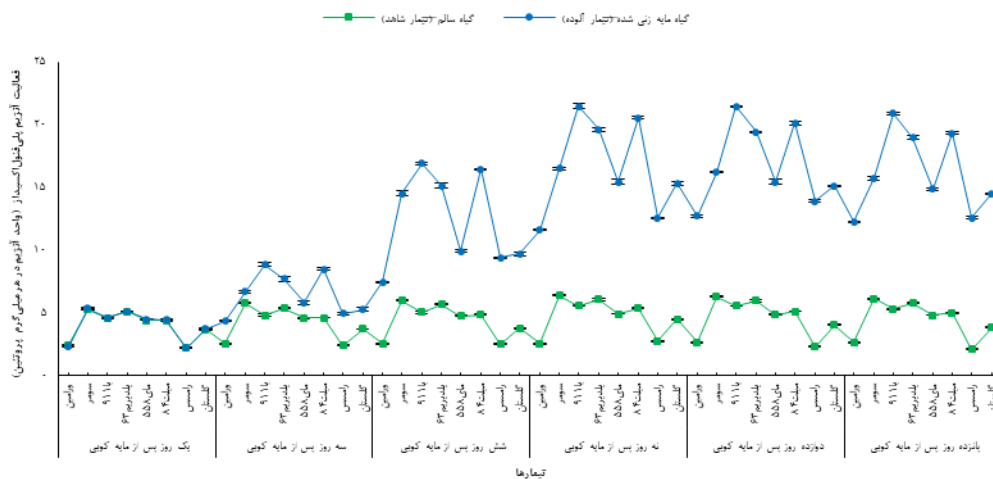
آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در تولید ترکیبات واکنش‌پذیر از فنل‌های موجود نقش دارد؛ این ترکیبات می‌توانند به‌طور مستقیم رشد و گسترش پاتوژن را مهار کرده یا از طریق تقویت ساختار دیواره سلولی به دفاع گیاه کمک کنند (یانگ و همکاران،

نتایج جداسازی و شناسایی قارچ عامل بیماری از ساقه‌های ارقام مختلف پنبه بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی و اطلاعات مولکولی حاصل از تکثیر قطعه موردنظر با استفاده از آغازگرهای اختصاصی گونه، تأیید کرد که عامل اصلی بیماری در مزرعه قارچ *V. dahliae* بوده است.

نقش آنزیم‌های پلی‌فنول‌اکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیاک‌لیاز در مقاومت پایه ارقام پنبه به *V. dahliae*: فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز و القای ژن‌های مرتبط با مسیر فنول‌پروپانویید نشان می‌دهد که این آنزیم با اکسید کردن فنل‌های موجود و تولید

از آلودگی مشاهده شد، در حالی که در ارقام ورامین و رامسس این حداکثر در روز ۱۲ روز پس از آلودگی رخ داد (شکل ۳). سطح فعالیت این آنزیم در ارقام ورامین و رامسس در مقایسه با سایر ارقام پایین‌تر بود (شکل ۳).

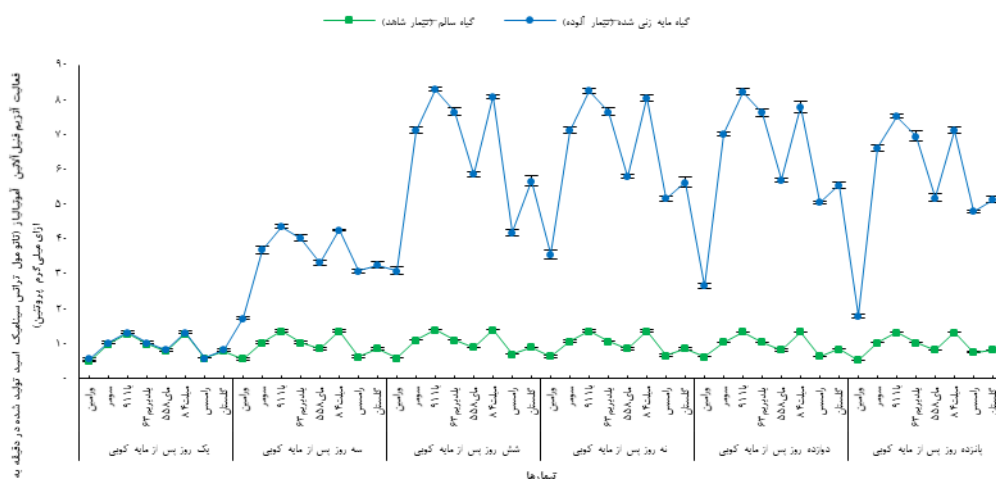
۲۰۲۳). نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز پس از آلودگی با قارچ *V. dahliae* در ارقام مختلف پنبه افزایش یافت. در ارقام با ۹۱۱، میل‌ت ۸۴، یلدیریم ۶۳، سومر، مای ۵۵۸ و گلستان، حداکثر فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در ۹ روز پس



شکل ۳- فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در گیاهچه‌های ارقام مختلف پنبه در زمان‌های مختلف پس از آلودگی با قارچ *Verticillium dahliae*. میانگین داده‌ها \pm خطای استاندارد ارائه شده و آزمایش دو بار با نتایج مشابه تکرار شد. اختصارات شکل: گیاه سالم (تیمار شاهد) - گیاه مایه‌زنی شده (تیمار آلوده) -

تفاوت معنی‌داری داشت (شکل ۴). سطح فعالیت این آنزیم در گیاهچه‌های آلوده همواره بالاتر از گیاهان غیرآلوده بود. در ارقام با ۹۱۱، میل‌ت ۸۴، یلدیریم ۶۳، سومر، مای ۵۵۸ و گلستان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز تا شش روز پس از مایه‌کوبی با قارچ *V. dahliae* به بیشترین مقدار رسید و پس از آن کاهش یافت (شکل ۴). در مقابل، در ارقام ورامین و رامسس، افزایش فعالیت این آنزیم نسبت به سایر ارقام پایین‌تر و با تأخیر بود و حداکثر آن در روز نهم پس از آلودگی مشاهده شد (شکل ۴).

آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز نقش کلیدی در مسیر فنول‌پروپانویید داشته و تولید پیش‌سازهای فنلی و لیگنین را تنظیم و هماهنگ می‌کند؛ این ترکیبات با تقویت ساختار دیواره سلولی و افزایش استحکام بافت‌های گیاه، نقش اساسی در مقاومت پنبه علیه *V. dahliae* ایفا می‌کند (لی و همکاران، ۲۰۲۵). فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز در گیاهچه‌های ارقام مختلف پنبه به منظور بررسی نقش آن در مقاومت به قارچ *V. dahliae* مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز در گیاهچه‌های آلوده با تیمارهای شاهد فاقد آلودگی



شکل ۴- فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیاکاز در گیاهچه‌های ارقام مختلف پنبه در زمان‌های مختلف پس از آلودگی با قارچ *Verticillium dahliae*. میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد ارائه شده و آزمایش دو بار با نتایج مشابه تکرار شد. اختصارات

شکل: گیاه سالم (تیمار شاهد) - گیاه مایه‌زنی شده (تیمار آلوده)

تغییرات تولید لیگنین در پنبه به منظور تعیین نقش آن در مقاومت پایه ارقام مختلف علیه قارچ *V. dahliae* مورد بررسی قرار گرفت. میزان چوب شدگی^۱ در گیاهان آلوده نسبت به گیاهان غیر آلوده بالاتر بود. در گیاهان آلوده، تولید لیگنین تا ۹ روز پس از آلودگی افزایش و پس از آن کاهش یافت. در مقابل، ارقام ورامین و رامسس مایه‌کوبی شده با قارچ *V. dahliae*، افزایش لیگنین با اندکی تأخیر (۱۲ روز پس از آلودگی) و شدت کمتر مشاهده شد (شکل ۵). تغییرات لیگنین در اغلب زمان‌های مورد بررسی در ارقام با ۹۱۱۱ا، میل ۸۴، بلدیریم ۶۳، سومر، مای ۵۵۸ و گلستان با قارچ *V. dahliae* به طور قابل توجهی بالاتر از ارقام ورامین و رامسس بود که تحت همان شرایط مایه‌زنی قرار گرفتند (شکل ۵).

نتایج نشان داد که میزان کل ترکیبات فنلی بین ارقام مختلف پنبه تحت شرایط آلوده و غیرآلوده تفاوت معنی‌داری داشت. در برگ‌های گیاهان آلوده، سطح ترکیبات فنلی در تمام زمان‌های مورد بررسی بالاتر از گیاهان غیرآلوده بود. تجمع ترکیبات فنلی در ارقام با ۹۱۱۱ا، میل ۸۴، یل‌دیریم ۶۳، سومر، مای ۵۵۸ و

تفاوت‌های زمانی در رسیدن به بیشینه فعالیت آنزیمی بین ارقام مقاوم و حساس ممکن است یکی از عوامل کلیدی تعیین‌کننده در میزان حساسیت گیاه باشد. ارقام مقاوم معمولاً توانایی فعال‌سازی سریع‌تر و پایدارتر آنزیم‌های مرتبط با مسیر فنول‌پرپانویید، از جمله فنیل آلانین آمونیاکاز و پلی‌فنول‌اکسیداز را دارند، که منجر به تجمع زود هنگام ترکیبات فنلی و لیگنین، تقویت دیواره سلولی و محدود کردن پیشروی قارچ *V. dahliae* می‌شود (ژو و همکاران، ۲۰۱۱). که با مشاهدات این پژوهش مطابقت دارد. در ارقام حساس، این افزایش فعالیت آنزیمی با تأخیر و در سطح پایین‌تری نسبت به ارقام مقاوم رخ می‌دهد، که می‌تواند توان گیاه در محدود کردن پیشروی قارچ را تحت تأثیر قرار دهد (لی و همکاران، ۲۰۲۵) که با مشاهدات این پژوهش مطابقت دارد.

تغییرات لیگنین و محتوای کل ترکیبات فنلی و نقش آن‌ها در مقاومت ارقام پنبه به *V. dahlia*:

ترکیبات فنلی، علاوه بر فعالیت ضدقارچی مستقیم، با فعال‌سازی پاسخ‌های دفاعی موجب تقویت دیواره سلولی و حفظ یکپارچگی بافت‌های گیاه می‌شوند و در نتیجه از پیشروی و گسترش *V. dahliae* در آوندها جلوگیری می‌کنند (ژیونگ و همکاران، ۲۰۲۱).

¹ lignification

فعال‌سازی سریع و شدید پاسخ‌های دفاعی شامل افزایش تجمع لیگنین و ترکیبات فنلی، القای پروتئین‌های دفاعی و تقویت فعالیت آنزیم‌های آنزیم‌های دفاعی و آنتی‌اکسیدانی همراه بود. در مقابل، این پاسخ‌های دفاعی در ارقام حساس‌تر (ورامین و رامسس) با تأخیر زمانی و شدت کمتر بروز یافت که در نهایت به افت شدیدتر صفات زراعی و کاهش توان گیاه در مهار پیشروی بیمارگر منجر شد. این یافته‌ها تأکید می‌کنند که ارزیابی هم‌زمان شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی، به ویژه تجمع لیگنین و فعالیت آنزیم‌های دفاعی، می‌تواند به‌عنوان معیارهای مؤثری برای گزینش ارقام مقاوم در برنامه‌های اصلاحی پنبه مورد استفاده قرار گیرد. بنابراین، ارقامی مانند با ۹۱۱ که توانایی بالایی در حفظ صفات زراعی و فعال‌سازی سریع پاسخ‌های دفاعی دارند، به‌عنوان یکی از مهمترین راهکارهای مؤثر مدیریتی برای کاهش خسارت اقتصادی ناشی از پژمردگی ورتیسیلیومی در مزارع پنبه توصیه می‌شوند.

سیاسگزاری

این پژوهش بخشی از پروژه مشترک (کد مصوب ۰۱۳-۰۸-۰۸۰۷-۰۸۰۴-۰۴۰۳۴۲) میان مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال و مؤسسه تحقیقات پنبه کشور است. نگارندگان از حمایت‌های علمی و مالی ارزشمند این مؤسسات صمیمانه سپاسگزاری می‌کنند.

یافته‌های سایر محققان در خصوص نقش مسیر فنول پروپانویید و تجمع ترکیبات فنلی در مقاومت پنبه به بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی مطابقت دارد، و نشان می‌دهد که تجمع ترکیبات فنلی و لیگنین می‌تواند به‌عنوان شاخص قابل اعتماد برای ارزیابی سطح مقاومت ارقام پنبه علیه قارچ *V. dahliae* مورد استفاده قرار گیرد (ژانگ و همکاران، ۲۰۲۴؛ ژیونگ و همکاران، ۲۰۲۱؛ بو و همکاران، ۲۰۱۴). مکانیسم‌های دفاعی پنبه علیه *V. dahliae* شامل تجمع لیگنین و ترکیبات فنلی، تقویت ساختار دیواره سلولی و فعال‌سازی گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر است (شابان و همکاران، ۲۰۱۸)، که با مشاهدات این پژوهش مطابقت داشته و نشان‌دهنده نقش کلیدی این پاسخ‌ها در مقاومت نسبی ارقام مقاوم است.

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که مقاومت ارقام پنبه به *V. dahliae* نتیجه برهم‌کنش شبکه‌ای پیچیده و هماهنگ از پاسخ‌های فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و مولکولی در گیاه میزبان است. با افزایش تدریجی تراکم جمعیت قارچ در خاک طی فصل رشد و تشدید شدت و سرعت پیشرفت بیماری، ارقام پنبه واکنش‌های متمایزی نسبت به این تنش زیستی از خود نشان دادند. ارقام مقاوم‌تر، از جمله با ۹۱۱، توانستند کاهش صفات زراعی را در شرایط بیماری به حداقل برسانند. این پایداری عملکردی همراه با

منابع

- Aini, N., Jibril, A.N., Liu, S., Pan, Z., Zhu, L. and 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. and Gillespie, K.M. 2007. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–ciocalteu reagent. *Nature Protocols*, 2(4): 875-877. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.102>
- Akar, H., Cat, A., and 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>
- Anonymous. 2023. OECD-FAO agricultural outlook 2023-2032. OECD Publishing, Paris. <https://doi.org/10.1787/08801ab7-en>

- Anonymous. 2024. Agricultural statistics for the crop year 1401-1402. Volume 1: Crops. Information and communication technology center, department of economy and planning publication. Ministry of Agriculture, 126 pp. (In Persian)
- Arabsalmani, M. 2014. Epidemiology of Verticillium wilt of cotton: pathogenicity variation among isolates *Verticillium dahliae*. Iranian Journal of Cotton Researches, 2(2): 59-73. <https://doi.org/10.22092/ijcr.2015.102033> (In Persian with English Abstract)
- Arabsalmani, M., Ghagarii, A., and 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. (In Persian)
- Arabsalmani, M., Okhovat, S. M., Sharifitherani, A. and J. Nikkhah, M. 2011. Epidemiology of Verticillium wilt of cotton in golestan province: effect of Verticillium wilt on quantitative and qualitative characters of cotton on yield. Iranian Journal of Plant Pathology, 47(1): 1-18. (In Persian with English Abstract)
- Ausher, R., Katan, J. and ORADIA, S. 1972. An improved selective medium for the isolation of *Verticillium dahliae*. Phytoparasitica, 3: 193-137.
- Aydođdu, M., Durmuş Çetin, M., Velioglu, S.K. and 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. and Dever, J.K. 2020. Impacts of Verticillium wilt on photosynthesis rate, lint production, and fiber quality of greenhouse-grown cotton (*Gossypium hirsutum*). Plants, 9(7): 857. <https://doi.org/10.3390/plants9070857>
- Back, M.A., Haydock, P.P.J., and 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. and Hunter, B.B. 1998. Illustrated genera of Imperfect fungi. 4th edition. APS Press. 218p.
- Bayat Tork, D., Panjehkeh, N., Alizadeh, H., Razi-Nataj, M. and 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(40): 181-191. <https://doi.org/10.52547/jcb.13.40.181> (In Persian with English Abstract)
- Bhat, R.G. and 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. and Reddy, O.U.K. 2005. Mapping of Verticillium wilt resistance genes in cotton. Plant Science, 168: 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(1): 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Bu, B., Qiu, D., Zeng, H., Guo, L., Yuan, J. and Yang, X. 2013. A fungal protein elicitor *PevDI* induces Verticillium wilt resistance in cotton. Plant Cell Reports, 33(3): 461-70. <https://doi.org/10.1007/s00299-013-1546-7>
- Chen, B., Li, S.K., Wang, K.R., Wang, J., Wang, F.Y., Xiae, C.H., Lai, J.C. and Wang, N. 2008. Spectrum characteristics of cotton canopy infected with Verticillium wilt and applications. Agricultural Sciences in China, 7(5): 561-569. [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(08\)60053-X](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(08)60053-X)
- Dhingra, O.D., and 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. and Qi, H. 2023. Restructuring tith layers can change the microbial community structure and affect the occurrence of Verticillium wilt in cotton field. Phyton-International Journal of Experimental Botany, 92(10): 2841-2860. <https://doi.org/10.32604/phyton.2023.030465>

- Dubery, I. and 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](https://doi.org/10.1016/0167-4838(94)90047-7)
- Fang, D.D., Jenkins, J.N., Deng, D.D., McCarty, J.C., Li, P. and 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>
- Fradin, E.F. and Thomma, B.P. 2006. Physiology and molecular aspects of *Verticillium* wilt diseases caused by *V. dahliae* and *V. albo-atrum*. *Molecular Plant Pathology*, 7(2): 71-86. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2006.00323.x>
- 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(7): 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. and 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 (1): 41 60. <https://doi.org/10.22092/ijcr.2024.366840.1224> (In Persian with English Abstract)
- Hatfield, R. and Fukushima, R. S. 2005. Can lignin be accurately measured? *Crop Science*, 45: 832-839. <https://doi.org/10.2135/cropsci2004.0238>
- Inderbitzin, P., Bostock, R.M., Davis, R.M., Usami, T., Platt, H.W. and Subbarao, K.V. 2011. Phylogenetics and taxonomy of the fungal vascular wilt pathogen *Verticillium*, with the descriptions of five new species. *PLoS One*, 6(12): e28341. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028341>
- Iqbal, M.J., Reddy, O.U.K., El-Zik, K.M. and Pepper, A.E. 2001. A genetic bottleneck in the evolution of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) examined using DNA markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 103(4): 547-554. <https://doi.org/10.1007/s001220100560>
- Kamburova, V., Salakhutdinov, I. and Abdurakhmonov I. 2022. Cotton breeding in the view of abiotic and biotic stresses: challenges and perspectives. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.104761>
- Karademir, E., Karademir, Ç., Ekinci, R., Baran, B. and Sagir, A. 2012. Effect of *Verticillium dahliae* Kleb on cotton yield and fiber technological properties. *International Journal of Plant Production*, 6(4): 387-408. <https://doi.org/10.1186/10.22069/ijpp.2012.756>
- Li, C., Zhang, G., Cheng, G. and Wang, Q. 2025. Phenylalanine ammonia-lyase *ghpal9* confers resistance to *Verticillium* wilt in cotton. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(11): 4983. <https://doi.org/10.3390/ijms26114983>
- 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. and 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, X., Liang, Z., Yang, G., Lin, T. and 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(5): 176. <https://doi.org/10.3390/drones8050176>
- Nurimanguli, A., Abdulaziz Nuhu, J., Shiming, L., Peng, H., Zhenyuan, P., Longfu, Z. and 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>

- Rehman, A., Mustafa, N., Du, X. and 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. and 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. and Lotfalinezhad, E. 2013. Epidemiology of cotton Verticillium wilts in Golestan province, the North of Iran. *Annual Research & Review in Biology*, 3: 564-573 (In Persian)
- Shaban, M., Miao, Y., Ullah, A., Khan, A.Q., Menghwar, H., Khan, A.H., Ahmed, M.M., Tabassum, M.A. and 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. and 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(3): 41-52.
- Singleton, L.L., Mihail, J.D., and Rush, C.M. 1992. *Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi*. APS Press, 265p.
- Song, R., Li, J., Xie, C., Jian, W. and 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(3): 1120. <https://doi.org/10.3390/ijms21031120>
- Wang, L., Yang, Y., Qin, J., Ma, Q., Qiao, K., Fan, S. and 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>
- Xiong, X.P., Sun, S.C., Zhu, Q.H., Zhang, X.Y., Li, Y.J., Liu, F., Xue, F. and Sun, J. 2021. The cotton lignin biosynthetic gene *Gh4CL30* regulates lignification and phenolic content and contributes to Verticillium wilt resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 34(3): 240-254. <https://doi.org/10.1094/MPMI-03-20-0071-R>
- Xu, J., Zhou, T., Wang, Y., Yang, Y., Pu, Y., Chen, Q., Zheng, K. and Sun, G. 2024. Functional analysis of the *GhIQDI* gene in cotton resistance to Verticillium wilt. *Plants*, 13(7): 1005. <https://doi.org/10.3390/plants13071005>
- Xu, L., Zhu, L., Tu, L., Liu, L., Yuan, D., Jin, L., Long, L. and 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(15): 5607-5621. <https://doi.org/10.1093/jxb/err245>
- Yang, S., Ge, Q., Wan, S., Sun, Z., Chen, Y., Li, Y., Liu, Q., Gong, J., Xiao, X., Lu, Q., Shi, Y., Peng, R., Shang, H., Chen, G. and Li, P. 2023. Genome-Wide identification and characterization of the *PPO* gene family in cotton (*Gossypium*) and their expression variations responding to Verticillium wilt infection. *Genes (Basel)*, 14(2): 477. <https://doi.org/10.3390/genes14020477>
- Zhang, J., Jiamahate, A., Feng, H., Bozorov, T.A., Zhang, D., Guo, J., Yang, H. and Zhang, D. 2024a. Distribution and pathogenicity differentiation of physiological races of *Verticillium dahliae* from cotton stems in western China. *Pathogens*, 13(7): 525. <https://doi.org/10.3390/pathogens13070525>
- Zhang, J., Sanogo, S., Flynn, R., Baral, J.B., Bajaj, S., Hughs, S. and 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, M., Ma, Y., Wang, Y., Gao, H., Zhao, S., Yu, Y., Zhang, X. and Xi, H. 2024b. MAPK and phenylpropanoid metabolism pathways involved in regulating the resistance of upland cotton plants to *Verticillium dahliae*. *Frontiers in Plant Science*, 15: 1451985. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1451985>

- Zhao, Y., Chen, W., Cui, Y., Sang, X., Lu, J., Jing, H., Wang, W., Zhao, P. and 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(4): 1063-1081. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03752-4>
- 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(4): 1795. <https://doi.org/10.3390/ijms22041795>

