

ORIGINAL ARTICLE

Assessment of biochemical and morphophysiological changes of some pepper cultivars infected with *Potato Virus Y* (PVY)

Samane Vatani¹, Saeed Nasrollanejad^{1*}, Abdolhosein Taheri¹, Farzad Ali Ramaji¹, Sharbano Vakili², Leila Fahmideh³

¹Department of Plant Protection, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

²Plant Protection Research Department, Agriculture and Natural Resources Research and Education Center of Golestan Province, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Gorgan, Iran

³Department of Plant Breeding and Biotechnology, Plant Production Faculty, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Correspondence

Saeed Nasrollanejad

Email: snasrollanejad@gau.ac.ir

How to cite

Vatani, S., Nasrollanejad, S., Taheri, A., Ali Ramaji, F., Vakili, Sh., & Fahmideh, L. (2024). Assessment of biochemical and morphophysiological changes of some pepper cultivars infected with *Potato Virus Y* (PVY). *Crop Biotechnology*, 13(46), 1-18.

ABSTRACT

Potato virus Y (PVY) is one of the most important and widely distributed viral diseases of Solanaceae family and the use of resistant cultivars is the most effective control measure of this disease. In this research, the response of seven pepper cultivars was investigated in two conditions, healthy control and infection with PVY. This experiment was performed as a factorial in a completely randomized design with four replications. The results showed that under the conditions of viral infection, the growth indices including: height of the plant (31.84%), shoot fresh and dry weight (46.55 and 46.61%), plant fresh and dry weight (50.16 and 50.09%), root fresh and dry weight (54.76 and 51.93%) of all seven cultivars decreased compared to the control conditions. While the amount of chlorophyll a, b and total chlorophyll, carotenoid, the content of phenol and flavonoid and diseases severity of all studied cultivars increased compared to the control conditions. To confirm the infection of treated plants, PVY virus identification was performed by direct ELISA test with IgG-PVY antiserum and RT-PCR test using specific primers PVY-8687F and PVY-9295R. The results of the RT-PCR test showed the amplification of a fragment of 327 base pairs, which indicates the confirmation of the ELISA test and it was consistent with the sequence determination results in the NCBI database (Accession number–KR909091.1) that was previously registered for this isolate. In general, the Cauba cultivar has shown a better reaction in the face of infection with PVY virus. So, this cultivar can be suggested for future studies of pepper cultivars.

KEY WORDS

Pepper cultivars, Disease severity, Photosynthetic pigments, Growth traits, Phenol and flavonoid content

نشریه علمی

زیست فناوری گیاهان زراعی

«مقاله پژوهشی»

بررسی تغییرات بیوشیمیایی و مورفوفیزیولوژیک برخی ارقام فلفل آلوده به ویروس وای سبب زمینی (PVY)

سمانه وطنی^۱، سعید نصرالله نژاد^{۱*}، عبدالحسین طاهری^۱، فرزاد علی رمجی^۱، شهربانو وکیلی^۲، لیلا فهمیده^۳

چکیده

ویروس وای سبب زمینی (PVY) یکی از مهمترین و شایعترین بیماری‌های ویروسی خانواده Solanaceae است و مؤثرترین روش مبارزه با آن استفاده از ارقام مقاوم است. در این پژوهش واکنش هفت رقم فلفل به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در دو تیمار شاهد و آلودگی با ویروس PVY بررسی شد. نتایج تیمارهای مایه‌زنی نشان دادند شاخص‌های رشدی شامل ارتفاع بوته (۳۱/۸۴ درصد)، وزن تر و خشک اندام هوایی (۴۶/۵۵ و ۴۶/۶۱ درصد)، وزن تر و خشک کل بوته (۵۰/۱۶ و ۵۰/۰۹ درصد)، وزن تر و خشک ریشه (۵۱/۹۳ و ۵۴/۷۶ درصد) در ارقام مایه‌زنی شده به PVY نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار نشان داد، در حالی که میزان کلروفیل a، b و کل، کاروتنوئید، محتوی فنول، فلاونوئید و شدت آلودگی تمامی ارقام مورد مطالعه نسب به شاهد افزایش نشان داد. جهت تأیید آلودگی گیاهان مایه زنی شده، شناسایی ویروس PVY با آزمون الایزای مستقیم و با آنتی سرم PVY-IgG و آزمون RT-PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی PVY-8687F و PVY-9295R انجام شد. نتایج آزمون RT-PCR نشان‌دهنده تکثیر قطعه‌ای به اندازه ۳۲۷ جفت باز بود که بیانگر تأیید آزمون الایزا بود و با نتایج تعیین توالی در پایگاه داده NCBI (Accession number-KR909091.1) که قبلاً برای این جدایه ثبت شده بود مطابقت داشت. در مجموع رقم کائوبا عکس العمل بهتری در مواجهه با آلودگی ویروسی نشان داد، لذا می‌توان این رقم را برای مطالعات آتی به‌نژادی ارقام فلفل پیشنهاد نمود.

واژه‌های کلیدی

ارقام فلفل، شدت آلودگی، رنگیزه‌های فتوسنتزی، صفات رشدی، محتوی فنل و فلاونوئید.

^۱گروه گیاهپزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. ^۲بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران. ^۳گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

نویسنده مسئول:

سعید نصرالله نژاد

رایانامه: snasrollanejad@gu.ac.ir

استناد به این مقاله:

وطنی، سمانه؛ نصرالله نژاد، سعید؛ طاهری، عبدالحسین؛ علی رمجی، فرزاد؛ وکیلی، شهربانو و فهمیده، لیلا (۱۴۰۳). بررسی تغییرات بیوشیمیایی و مورفوفیزیولوژیک برخی ارقام فلفل آلوده به ویروس وای سبب زمینی (PVY). فصلنامه علمی زیست فناوری گیاهان زراعی، ۱۴(۴)، ۱-۱۸.

<https://cropbiotech.journals.pnu.ac.ir/>

مقدمه

یکی از مهمترین عوامل کاهش رشد و عملکرد گیاهان در کنار تنش‌های غیرزنده، تنش‌های زیستی است که توسط میکروارگانیسم‌هایی همچون قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها و علف‌های هرز ایجاد می‌شود (Verma *et al.*, 2013) و هر ساله خسارت‌های زیان‌باری بر رشد رویشی و زایشی محصولات در جهان وارد می‌نماید (Gull *et al.*, 2019). تنش‌های زنده و غیر زنده از مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر تولید محصولات کشاورزی محسوب می‌شوند. همچنین موجب تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی در گیاهان می‌گردد (Umar *et al.*, 2019; Kiani *et al.*, 2020). این نوع تنش سبب کاهش رشد قسمت‌های مختلف گیاه اعم از ریشه‌ها و اندام‌های هوایی (Mofunanya *et al.*, 2015)، کاهش سطح برگ (Pazarlar *et al.*, 2013)، ارتفاع، وزن تر و خشک گیاه (Shamli *et al.*, 2017)، کاهش فتوسنتز و سبزیگی گیاه، (Saadati *et al.*, 1400) تغییر در سنتز پروتئین‌ها (Abdullahi *et al.*, 2014) و غیره می‌شود. کلروفیل برگ یکی از مهم‌ترین شاخص‌های نشان‌دهنده تنش‌های محیطی وارده بر گیاه بوده به طوری که میزان کلروفیل در گیاهان تحت تنش کاهش یافته و باعث تغییر و کاهش جذب نور توسط گیاه می‌شود (Haghpanah *et al.*, 2019).

ویروس‌های گیاهی یکی از عوامل ایجاد کننده تنش‌های زیستی می‌باشند. ویروس‌ها انگل اجباری بوده و قادرند بیماری‌های شدیدی در گیاهان ایجاد و در نتیجه سبب کاهش بسیاری از محصولات مهم شوند (Saadati *et al.*, 1400). آلودگی‌های ویروسی فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی درون سلول گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهند و اغلب سبب ظهور علائمی مانند کوتولگی، چروکیدگی، ابلقی شدن برگ‌ها، پژمردگی، لکه‌های سبز و بافت مردگی، ریزش برگ و میوه و موزائیکی شدن می‌شوند (Mishra *et al.*, 2020). یکی از بیمارگرهای ویروسی مهم، ویروس وای سیب زمینی (Potato Virus Y, PVY) است که ویروسی میله‌ای شکل، خمش پذیر با ژنوم RNA تک رشته‌ای (ssRNA) با قطبیت مثبت به طول حدوداً ۹/۷ کیلو باز متعلق به جنس *Potyvirus* و خانواده *Potyviridae* است که برای ۱۱ پروتئین عملکردی را رمزگذاری می‌کند (Baebler *et al.*, 2020). جدایه‌های مختلف PVY را براساس نوع علائمی که در میزبان‌های مختلف ایجاد می‌کنند، به هفت گروه نژادی تقسیم‌بندی شده‌اند و سه گروه نژادی مهم آن

شامل PVY^O ، PVY^N و PVY^C هستند که گروه‌های PVY^C و PVY^O هر دو در گیاه توتون، علائم موزائیک مشابه تولید می‌کنند و در سیب‌زمینی، نژاد PVY^C علائم موزائیک ملایم ایجاد می‌کند و اما نژاد PVY^O علائم شدیدتری مانند بافت مردگی، موزائیک خشن برگی و عقب ماندگی رشدی ایجاد می‌کند، در حالی که گروه نژادی PVY^N موجب بروز بافت مردگی رگبرگی در توتون و موزائیک ملایم در اغلب وارپته‌های سیب‌زمینی می‌شوند (Glais *et al.*, 2017). PVY به شدت بر تولید سیب‌زمینی از نظر عملکرد و کیفیت محصول تأثیر می‌گذارد که در صورت آلودگی ثانویه می‌تواند تا ۸۵ درصد کاهش عملکرد داشته باشد (Kežar *et al.*, 2019). این ویروس همچنین به سایر محصولات زراعی مهم از خانواده Solanaceae مانند تنباکو، فلفل و گوجه فرنگی و همچنین به گیاهانی غیر از خانواده بادمجانیان از جمله: عروسک پشت پرده و علفهای هرزی مانند تاجریزی حمله و آن‌ها را آلوده می‌کند (Kreuz *et al.*, 2020). یکی از میزبان‌های مهم این ویروس گیاه فلفل است که آلودگی به آن موجب بروز علائم موزائیک، پیسک و بدشکلی در برگ‌ها و میوه‌ها و جلوگیری از رشد مطلوب گیاه می‌شود و در صورت همراه بودن سایر آلودگی‌های ویروسی با این ویروس، گیاه فلفل دچار نکرور و کوتولگی می‌گردد (Aghmolaei *et al.*, 2015). گیاه فلفل از جمله سبزی‌های پرمصرف متعلق به Solanaceae است که دارای حدود ۳۰ گونه گیاهی می‌باشد که شش گونه آن از قبیل *Capsicum annuum* L.، *Capsicum baccatum* L.، *Capsicum frutescens* L.، *Capsicum chinense* Jacq. و *Capsicum praetermissum* Heiser & P.G.Sm و *Capsicum pubescens* Ruiz & Pav. به صورت عمده در جهان کشت و کار می‌شوند (Zamljen *et al.*, 2020). یکی از گونه‌ای پرمصرف این جنس فلفل دلمه‌ای (*Capsicum annuum*) است که بومی مناطق جنوب آمریکای شمالی و شمال آمریکای جنوبی است (Rodríguez-Calzada *et al.*, 2019) و عمدتاً به رنگ‌های سبز، قرمز، زرد و نارنجی یافت می‌شود و در ایران نیز کشت می‌شود. این محصول نه تنها به دلیل ارزش اقتصادی، بلکه به دلیل دارا بودن رنگ‌های طبیعی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ویتامین A، C و E بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Fan *et al.*, 2020).

در مطالعه‌ای تأثیر آلودگی ویروسی ناشی از ویروس موزائیک توتون (*Tobacco mosaic virus*, TMV) را بر وارپته‌های

میانگین دمای شبانه‌روزی 28 ± 2 درجه سانتیگراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند.

انتقال ویروس: به منظور مایه‌زنی ارقام کاشته شده یک جدایه ویروس وای سیب‌زمینی که قبلاً از مزارع استان گلستان جداسازی و مورد خالص سازی بیولوژیک قرار گرفته بود و همچنین در شرایط گلخانه بر روی توتون رقم Burley 21 مورد تکثیر و نگهداری قرار گرفته بود و در بانک ژن NCBI نیز ثبت شده بود جهت مایه زنی ارقام فلفل مورد استفاده قرار گرفت. مایه تلقیح ویروس برای مایه‌زنی و انتقال عصاره از برگ‌های جوان که علایم آلودگی ویروسی را خوب نشان دادند، انتخاب شدند. پس از انتخاب بافت‌های آلوده مناسب و همگن‌سازی آنها با استفاده از هاون چینی سرد، مایه ویروس با غلظت بالا ($OD=1.45$) تهیه گردید (Abdullahi et al., 2014).

تهیه بافر مایه زنی: ابتدا محلول بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار با $pH=7/5$ جهت تهیه بافر مایه زنی ویروس تهیه شد سپس این محلول تا زمان عصاره‌گیری و انتقال به گیاه در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد (Jafarpour, 1992). جهت عصاره‌گیری و تهیه مایه ویروس یک گرم از برگ آلوده به ویروس در هاونی که قبلاً سرد شده بود، منتقل و محلول بافر فسفات پتاسیم سرد با نسبت یک به ده اضافه شد و پس از تهیه عصاره، با استفاده از پارچه ممل به داخل ظرفی مناسب صاف گردید و سپس تا موقع مصرف در داخل ظرف یخ قرار گرفت.

مایه‌زنی گیاهان با PVY: در مرحله چهارم برگ‌های گیاهچه‌های فلفل، مایه‌زنی با PVY^0 انجام شد. جهت اعمال تیمار ویروس، برگ‌های ارقام مورد بررسی با استفاده از پودر کاربوراندوم زخم و سپس به ویروس آلوده شدند.

صفات مورد بررسی: تقریباً یک ماه بعد از اعمال تیمار ویروس، نمونه‌برداری از هر تیمار انجام شد و صفاتی مانند شاخصه‌های رشدی و همچنین اندازه‌گیری محتوی فنول، فلاونوئید و میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ و همچنین شدت آلودگی ویروسی در هر دو شرایط شاهد و آلودگی با ویروس اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی: اندازه‌گیری ارتفاع بوته با استفاده از خط کش (برحسب سانتی متر) انجام شد. برای اندازه‌گیری وزن تر و وزن خشک، ابتدا اندام هوایی هر گیاه از ریشه‌ها جدا، وزن تر ریشه و اندام هوایی بر حسب گرم و با ترازو با

Kumsal و Ergenekon از طریق اندازه‌گیری برخی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی بررسی کردند و نتایج نشان داد که آلودگی با ویروس می‌تواند سبب کاهش صفاتی از قبیل محتوی نسبی آب برگ، طول ریشه، وزن تر و خشک ساقه و ریشه، ارتفاع گیاه و افزایش محتوی پرولین ارقام مورد بررسی فلفل شود (Pazarlar et al., 2013). همچنین در پژوهشی وضعیت آلودگی مرزاع توتون با ویروس PVY در مناطق مختلف استان گلستان مورد مطالعه قرار گرفت و آلودگی مزارع توتون استان گلستان با این ویروس قبلاً گزارش شده است (Sharifi-nezamabad et al., 2019). بنابراین با توجه به مطالب فوق این تحقیق با هدف بررسی و مقایسه تأثیر ویروس وای سیب‌زمینی بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی هفت رقم فلفل در شرایط کشت گلخانه‌ای انجام شد.

روش‌شناسی پژوهش

در این تحقیق مایه زنی هفت رقم فلفل شامل: آوانته، گاسپیل، بنینو، تارانتو، اینسپرشین، نیروین و کائوبا با ویروس وای سیب زمینی PVY^0 (Accession number-KR909091.1) در شرایط گلخانه انجام شد و در ادامه اثر مایه‌زنی این ویروس بر برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه فلفل، در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده تولید گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در سال ۱۴۰۱-۱۴۰۲ بررسی شد. تیمارهای آزمایشی شامل ارقام فلفل (هفت رقم) و سطوح مختلف تنش زیستی (دو سطح عدم آلودگی (شاهد) و آلودگی توسط مایه‌زنی با جدایه ویروس وای سیب‌زمینی بود. جهت تأیید آلودگی، ویروس PVY^0 با آزمون الایزای مستقیم و با آنتی سرم $IgG-PVY^0$ و آزمون RT-PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی PVY^0 -867F و PVY^0 -9295R (نتایج تعیین توالی برای این جدایه قبلاً در پایگاه داده NCBI با شماره دسترسی: Accession number-KR909091.1 ثبت شده بود) شناسایی شد.

تهیه بذور و روش کاشت: بذورهای ارقام رایج کشت‌های گلخانه‌ای کشور که تمامی آنها هیبرید و وارداتی هستند از مرکز بانک بذر مرکز تحقیقات و آموزش گرگان تهیه شد. بذر ارقام مذکور شامل آوانته، گاسپیل، بنینو، تارانتو، اینسپرشین، نیروین و کائوبا در گلدان‌های حاوی خاک استریل در شرایط کنترل شده و به دور از منابع آلودگی کاشته و پس از کشت در گلخانه با

اندازه‌گیری رنگی‌های فتوستنتزی: برای سنجش میزان کلروفیل‌ها و کارتنوئیدها از روش *Dere et al.* (1998) استفاده شد. ابتدا ۰/۲ گرم برگ با ۱۰ میلی لیتر متانول ۹۹ درصد در هاون چینی سائیده شده و سپس محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ شده و سپس جذب محلول رویی جهت تعیین میزان کلروفیل‌ها و کارتنوئید توسط اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۵۳، ۶۶۶ و ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید. میزان کلروفیل a و b، کلروفیل کل (a+b) و میزان کارتنوئیدها از طریق معادله‌های زیر محاسبه گردید:

$$\text{Chl a} = 15.65 A_{666} - 7.340 A_{653} \quad (۱) \text{ معادله}$$

$$\text{Chl b} = 27.05 A_{653} - 11.21 A_{666} \quad (۲) \text{ معادله}$$

$$\text{Chl T} = \text{Chl a} + \text{Chl b} \quad (۳) \text{ معادله}$$

$$\text{Carotenoid} = \frac{[(1000 * A_{470}) - (3.27 * \text{mg chl. a}) - (104 * \text{mg chl. B})]}{227} \quad (۴) \text{ معادله}$$

آزمون ساندویچ دوطرفه الایزا (DAS-ELISA): یک ماه بعد از اعمال تیمار ویروس، نمونه برداری از برگ هر تیمار جهت بررسی وجود آلودگی‌های ویروسی در نمونه‌ها، با استفاده از آزمون الایزا و بر اساس روش توصیفی کلارک و آدامز (Clark and Adams, 1977) انجام شد. IgG- conjugate و IgG به کار رفته جهت شناسایی PVY تهیه شده از شرکت DSMZ آلمان تهیه شده بود.

ارزیابی نتایج آزمون الایزا: به منظور ارزیابی نتایج آزمون الایزا از دستگاه الایزا-خوان مدل ELx800 و از طول موج ۴۰۵ نانومتر استفاده گردید. ملاک ارزیابی برای تعیین آلودگی، میزان جذب نور یک ساعت بعد از ریختن سوبسترا و ملاک ارزیابی برای تعیین غلظت ویروس در نمونه‌ها مقدار جذب نور چاهک‌ها بعد از یک ساعت در نظر گرفته شد. برای محاسبه حد آلودگی از فرمول زیر استفاده شد (Clark and Adams, 1977):

$$R = \bar{x} + 3SD$$

R حد آلودگی، \bar{x} میانگین جذب نور مربوط به چاهک‌های شاهد منفی و SD انحراف معیار اعداد مربوط به میزان جذب نور در چاهک‌های شاهد منفی است.

آزمون RT-PCR: ابتدا RNA کل استخراج شد (Mishra et al., 2020) و سپس به منظور بررسی کیفیت RNA استخراج شده از الکتروفورز ژل آگارز ۱ درصد استفاده شد. به منظور تهیه cDNA ابتدا ۰/۵ گرم بافت آلوده برگ در سه برابر حجم بافر استخراج) سیترات آمونیوم ۰/۱ مولار با $\text{PH} = ۶/۸$ در هاون

دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. در ادامه برای اندازه‌گیری وزن خشک ریشه و اندام هوایی، نمونه‌ها به انکوباتور با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد منتقل به مدت ۷۲ ساعت نگهداری شدند و پس از آن وزن نمونه‌ها بر حسب گرم و با ترازو با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری گردید (Fahmideh et al., 2022).

تهیه عصاره جهت اندازه‌گیری محتوی فنول و

فلاونوئید کل: به یک گرم از بافت برگ ۴/۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد اضافه گردید و سپس در داخل هاون چینی خرد شد تا به صورت کاملاً هموزن و یکنواخت درآید. سپس، عصاره فوق به لوله‌های پلی‌اتیلنی منتقل گردید و به مدت ۸ ساعت در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. پس از این مدت، همگن حاصله در مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. فاز بالایی (روشن‌اور) برداشته و برای اندازه‌گیری محتوی فنول و فلاونوئید کل استفاده شد (Abdullahi et al., 2014).

اندازه‌گیری فنول کل: مقادیر فنول تام با روش فولین

سیوکالتیو اندازه‌گیری شد (Ordone, et al., 2008). بدین ترتیب ابتدا به ۰/۵ میلی لیتر از هر عصاره ۲۵ میلی لیتر واکنش گر ۰/۲ نرمال فولین سیوکالتیو اضافه و مخلوط حاصله به مدت ۵ دقیقه بهم زده می‌شود و در مرحله بعد به مخلوط حاصله ۲ میلی لیتر محلول کربنات سدیم ۲۰ درصد با غلظت ۷۵ گرم در لیتر اضافه شد و در نهایت جذب نمونه‌ها پس از ۲ ساعت قراردادن نمونه‌ها در دمای اتاق با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت و سپس با استفاده از منحنی استاندارد (بر اساس میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره) مقادیر فنول تام عصاره اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری فلاونوئید کل: میزان محتوای فلاونوئید عصاره

با روش رنگ سنجی ارزیابی شد (Chang et al., 2002): بدین صورت ابتدا به هر ۰/۵ میلی لیتر از عصاره ۱/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۱ میلی لیتر آلومینیوم کلراید ۱۰ درصد اضافه گردید. در مرحله بعد به مخلوط حاصل، ۰/۱ میلی لیتر محلول پتاسیم استات ۱ مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر اضافه و بعد از سپری شدن ۳۰ دقیقه جذب مخلوط حاصل در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت و با استفاده از منحنی استاندارد (بر اساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره) میزان فلاونوئید اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری شدت آلودگی: یک ماه بعد از مایه‌زنی آماربرداری به روش وریبر (Verrier et al., 2001) از تیمارها با نمره دهی صفر (بدون علائم) تا نه (دارای علائم شدید) انجام شد.

| COMMENTS | | | | | | | | | | | | |
|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
| CALL | | | | | | | | | | | | |
| CalcOD | 0.068 | 0.073 | 0.070 | 0.086 | 0.081 | 0.077 | 0.079 | 0.083 | 0.075 | 0.070 | 0.069 | 0.069 |
| Well | SMP1 | SMP9 | SMP17 | SMP25 | SMP33 | SMP41 | SMP49 | SMP57 | SMP65 | SMP73 | SMP81 | SMP89 |
| RSLT | | | | | | | | | | | | |
| CALL | | | | | | | | | | | | |
| CalcOD | 0.072 | 0.197 | 0.197 | 0.196 | 0.190 | 0.174 | 0.182 | 0.176 | 0.178 | 0.220 | 0.207 | 0.071 |
| Well | SMP2 | SMP10 | SMP18 | SMP26 | SMP34 | SMP42 | SMP50 | SMP58 | SMP66 | SMP74 | SMP82 | SMP90 |
| RSLT | | | | | | | | | | | | |
| CALL | | | | | | | | | | | | |
| CalcOD | 0.076 | 0.150 | 0.178 | 0.213 | 0.203 | 0.244 | 0.218 | 0.218 | 0.200 | 0.186 | 0.218 | 0.075 |
| Well | SMP3 | SMP11 | SMP19 | SMP27 | SMP35 | SMP43 | SMP51 | SMP59 | SMP67 | SMP75 | SMP83 | SMP91 |
| RSLT | | | | | | | | | | | | |
| CALL | | | | | | | | | | | | |
| CalcOD | 0.069 | 0.189 | 0.282 | 0.193 | 0.175 | 0.187 | 0.226 | 0.168 | 0.221 | 0.178 | 0.186 | 0.069 |
| Well | SMP4 | SMP12 | SMP20 | SMP28 | SMP36 | SMP44 | SMP52 | SMP60 | SMP68 | SMP76 | SMP84 | SMP92 |
| RSLT | | | | | | | | | | | | |
| CALL | | | | | | | | | | | | |
| CalcOD | 0.073 | 0.179 | 0.177 | 0.183 | 0.186 | 0.187 | 0.188 | 0.180 | 0.188 | 0.188 | 0.177 | 0.077 |
| Well | SMP5 | SMP13 | SMP21 | SMP29 | SMP37 | SMP45 | SMP53 | SMP61 | SMP69 | SMP77 | SMP85 | SMP93 |
| RSLT | | | | | | | | | | | | |
| CALL | | | | | | | | | | | | |
| CalcOD | 0.066 | 0.188 | 0.169 | 0.188 | 0.170 | 0.184 | 0.177 | 0.182 | 0.180 | 0.203 | 0.176 | 0.070 |
| Well | SMP6 | SMP14 | SMP22 | SMP30 | SMP38 | SMP46 | SMP54 | SMP62 | SMP70 | SMP78 | SMP86 | SMP94 |
| RSLT | | | | | | | | | | | | |
| CALL | | | | | | | | | | | | |
| CalcOD | 0.072 | 0.171 | 0.172 | 0.182 | 0.174 | 0.165 | 0.173 | 0.165 | 0.194 | 0.187 | 0.185 | 0.072 |
| Well | SMP7 | SMP15 | SMP23 | SMP31 | SMP39 | SMP47 | SMP55 | SMP63 | SMP71 | SMP79 | SMP87 | SMP95 |
| RSLT | | | | | | | | | | | | |
| CALL | | | | | | | | | | | | |
| CalcOD | 0.075 | 0.066 | 0.086 | 0.080 | 0.068 | 0.073 | 0.074 | 0.071 | 0.069 | 0.063 | 0.069 | 0.067 |
| Well | SMP8 | SMP16 | SMP24 | SMP32 | SMP40 | SMP48 | SMP56 | SMP64 | SMP72 | SMP80 | SMP88 | SMP96 |
| RSLT | | | | | | | | | | | | |

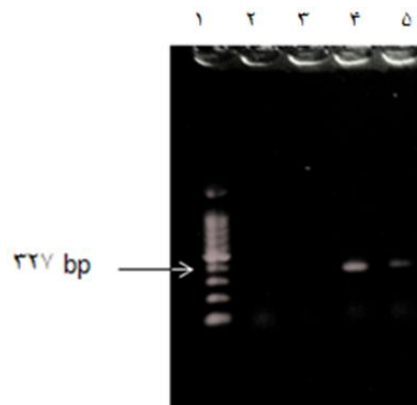
شکل ۲. در پلیت الایزا (نمونه OD)

ارتفاع بوته

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌های جدول ۱ نشان داد که ارتفاع بوته‌ها تحت تأثیر سطوح تیمار رقم و مایه‌زنی ویروس قرار گرفت و اختلاف از نظر آماری در سطح یک درصد معنی‌دار بود اما سطوح متقابل آن‌ها معنی‌دار نبود. نتایج مقایسه میانگین سطوح جدول ۲ نشان داد از نظر ارتفاع بوته بین ارقام فلفل اختلاف معنی‌دار وجود دارد به طوری که بیشترین و کمترین ارتفاع بوته به ترتیب با میانگین‌های ۱۵۰/۸۸ و ۹۶ سانتی‌متر مربوط به ارقام کائوبا و آوانته بود، از طرفی بین سطوح تیماری مایه‌زنی با ویروس و سطح شاهد اختلاف معنی‌دار برای صفت ارتفاع بوته مشاهده شد. به طوری که طی آلودگی ویروسی میزان ارتفاع بوته نسبت به سطح شاهد کاهش ۳۱/۸۴ درصدی نشان داد (جدول ۳). در راستای تایید نتایج این تحقیق مبنی بر کاهش ارتفاع ارقام فلفل طی تیمار آلودگی با ویروس PVY، در تحقیقی Sofy *et al.* (2021) اثر ویروس AMV^۱ را بر روی گیاه بادمجان بررسی و یافته‌ها نشان داد که طی تیمار آلودگی با ویروس مقدار شاخص‌های رشدی از قبیل بیوماس کل، سطح

نتایج آزمون RT-PCR

نتایج نشان داد آغازگرهای اختصاصی طراحی شده برای PVY قادر به شناسایی این ویروس در عصاره گیاهان تیمار شده بود و با استفاده از آغازگرهای اختصاصی PVY قطعاتی با اندازه ۳۲۷ bp از ناحیه CP تکثیر شد (شکل ۳) که نتایج حاصله مطابق با اندازه مورد انتظار در تحقیق Fakhrrabad *et al.* (2012) و Boonham *et al.* (2002) بوده است.



شکل ۳. الکتروفورز محصولات PCR با آغازگرهای اختصاصی PVY. چاهک ۱: لدر یا ساینز مارکر (۱۰۰۰ bp)، چاهک‌های ۲ و ۳ نمونه‌های گیاهان مایه زنی شده با بافر (شاهد) و چاهک‌های ۴ و ۵ نمونه‌های آلوده شده با بافر حاوی عصاره گیاهان آلوده به PVY.

حاصله از جدول ۴ مشخص شد که تیمار مایه‌زنی با ویروس تأثیر چشمگیر بر میزان وزن تر و خشک اندام‌هوایی داشت، به طوری که طی آلودگی ویروسی میزان وزن تر و خشک اندام‌هوایی بوته‌ها نسبت به سطح شاهد به ترتیب کاهش ۴۶/۵۵ و ۴۶/۶۱ درصدی نشان داد.

براساس نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل (شکل ۴) مشخص شد که تیمار مایه‌زنی با ویروس سبب کاهش وزن تر و خشک اندام‌هوایی ارقام فلفل مورد بررسی شد به طوری که بیشترین میزان وزن تر و خشک اندام‌هوایی طی شرایط شاهد (عدم آلودگی) مربوط به رقم بنینو با میانگین‌های ۱۷/۱۶ و ۲/۸۳ گرم بود، هرچند که بین ارقام مورد بررسی در شرایط آلودگی اختلافی از لحاظ آماری مشاهده نشد ولی با مقایسه ارقام در شرایط آلودگی مشاهده شد که بیشترین وزن تر و خشک اندام‌هوایی مربوط به رقم کائوبا به ترتیب ۸/۵۲ و ۱/۶۸ گرم بود (شکل ۴).

برگ، تعداد برگ، ارتفاع گیاه و طول ریشه نسبت به سطح شاهد کاهش داشتند.

وزن تر و خشک اندام‌هوایی، کل بوته و ریشه

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برخی شاخص‌های رشدی در این آزمایش از قبیل وزن تر و خشک اندام‌هوایی تحت تأثیر تیمارهای رقم، مایه‌زنی با ویروس و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفتند به طوری که اثر تیمارهای رقم و مایه‌زنی ویروس در سطح یک درصد و اثر متقابل رقم × مایه‌زنی در سطح پنج معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین سطوح نشان داد میزان وزن تر و خشک اندام‌هوایی بین ارقام فلفل متفاوت بود به طوری که بیشترین وزن تر و خشک اندام‌هوایی بین ارقام مختلف مربوط به رقم بنینو به ترتیب با میانگین ۱۲/۵۶۱ و ۳/۷۶ گرم بود و کمترین میزان وزن تر (۸/۹۶۶ گرم) و خشک (۲/۶۸ گرم) هم مربوط به رقم آواته بود (جدول ۳). بر اساس نتایج

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس برخی خصوصیات مورفولوژیکی ارقام فلفل تحت تیمار ویروس.

| Source | df | Height | Fresh_weight_aerial parts | Dry weight aerial parts | Fresh weight of the plant | Dry weight of the plant | Root fresh weight | Root dry weight | Diseases severity |
|---|----|---------------------|---------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| Variety | 6 | 3853.7** | 10.85** | 0.72** | 19.54** | 1.04** | 1.62 ^{ns} | 0.11 ^{ns} | 23.45** |
| Inoculation | 1 | 32448.3** | 579.09** | 8.64** | 1146.5** | 25.24** | 95.9** | 4.34** | 108.64** |
| Interaction effect of variety × inoculation | 6 | 701.8 ^{ns} | 5.73* | 0.309* | 10.19* | 0.7* | 1.2 ^{ns} | 0.36** | 5.31** |
| Error | 42 | 865.02 | 52.2 | 0.18 | 3.62 | 0.29 | 1.207 | 0.55 | 0.405 |
| (CV) | - | 13 | 12.89 | 13.9 | 14.8 | 11.2 | 12.54 | 12.11 | 8.9 |

ns, *, **: no significant difference, significant difference at 5% and 1% level, respectively.

جدول ۳. نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح رقم بر صفات مورفولوژیکی ارقام فلفل.

| Variety | Height (cm) | Fresh_weight_aerial parts (gr) | Dry weight aerial parts (gr) | Fresh weight of the plant (gr) | Dry weight of the plant (gr) | Diseases severity |
|------------|-------------|--------------------------------|------------------------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------|
| Avante | 96 c | 8.966 c | 2.68 c | 11.506 c | 3.45bc | 6.75a |
| Gassipal | 148.38 bc | 10.714 bc | 3.21 bc | 13.475 bc | 4.04 ab | 6.5a |
| Benino | 138.5 a | 12.561 a | 3.76 a | 16.17 a | 4.85 a | 4b |
| Taranto | 104.50 bc | 9.871 bc | 2.96 b | 12.72 bc | 3.81 bc | 3.5b |
| Inspershin | 115.13 bc | 9.88 bc | 2.964 b | 12.406 c | 3.72 bc | 3.5b |
| Nirvin | 138.13 ab | 10.88 ab | 3.26 bc | 12.406 bc | 3.72 c | 4b |
| Cauba | 150.88 ab | 11.297 ab | 3.28 bc | 14.806 ab | 4.44 ab | 2c |

Similar letters for each trait between control and treated samples indicate non-significant differences between them.

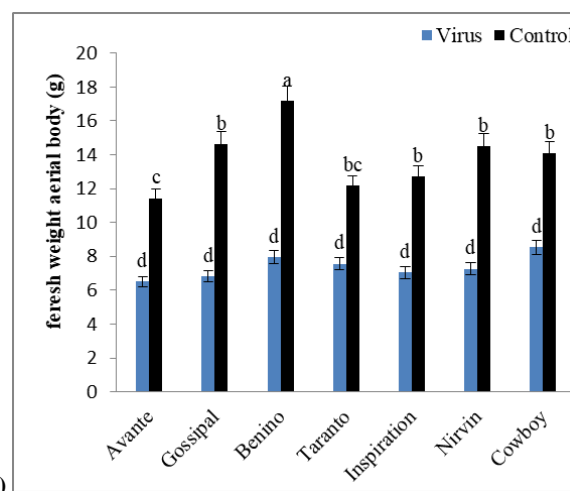
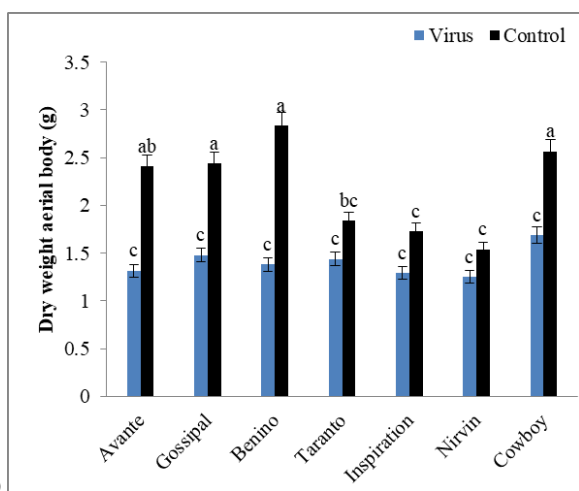
جدول ۴. نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح تیمار مایه‌زنی بر صفات مورفولوژیکی ارقام فلفل.

| Inoculation treatment | Height (cm) | Fresh_weight_aerial body (gr) | Dry weight aerial body (gr) | Fresh weight of the plant (gr) | Dry weight of the plant (gr) | Root fresh weight (gr) | Root dry weight (gr) | Diseases severity |
|-----------------------|-------------|-------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------|----------------------|-------------------|
| Control | 151.42 a | a 13.81 | a 4.14 | a 18.04 | a 5.41 | a 4.23 | a 1.7 | 5.71 a |
| Virus | 103.2b | b 7.381 | b 2.21 | b 8.99 | b 2.7 | b 1.61 | b 0.48 | 2.92 b |

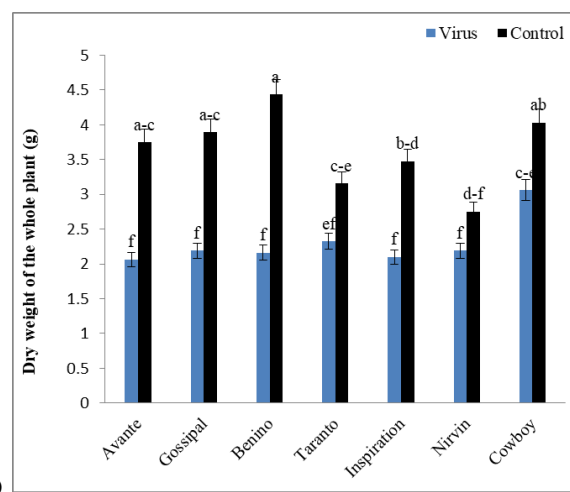
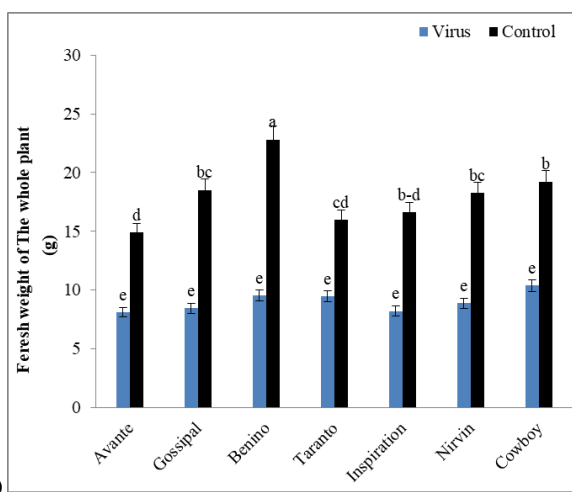
Similar letters for each trait between control and treated samples indicate non-significant differences between them.

براساس نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل رقم و مایه زنی ویروس مشخص شد که طی آلوده‌سازی ارقام فلفل به ویروس PVY وزن تر و خشک کل بوته‌ها نسبت به سطح شاهد (عدم آلودگی) روندی کاهشی داشتند به طوری که بیشترین وزن تر و خشک بوته‌ها طی شرایط شاهد (عدم آلودگی) مربوط به رقم بنینو با میانگین‌های ۲۲/۰۸ و ۴/۴۳ گرم بود، هرچند که بین ارقام مورد بررسی در شرایط آلودگی اختلافی از لحاظ آماری مشاهده نشد ولی با مقایسه ارقام در شرایط آلودگی مشاهده شد که بیشترین وزن تر و خشک کل بوته به ترتیب میانگین ۱۰/۷۳ و ۳/۰۶ گرم به رقم کائوبا بود و همچنین کمترین مقدار وزن تر و خشک کل نیز در شرایط آلودگی مربوط به رقم آوانته بود (شکل ۵).

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌های جدول ۲ نشان داد که وزن تر و خشک کل بوته تحت تأثیر تیمار رقم، مایه‌زنی ویروس و متقابل آن‌ها قرار گرفت و اختلاف از نظر آماری در سطح یک درصد معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین سطوح جدول ۳ نشان داد از نظر وزن تر و خشک کل بوته بین ارقام فلفل اختلافاتی وجود دارد به طوری که بیشترین وزن تر و خشک کل بوته مربوط به رقم بنینو با میانگین‌های ۱۶/۱۷ و ۴/۸۵ گرم می‌باشد، از طرفی بین تیمار مایه‌زنی ویروس با سطح شاهد تفاوت‌هایی از لحاظ وزن تر و خشک کل بوته مشاهده شد، به طوری که طی آلودگی ویروسی میزان وزن تر و خشک کل بوته نسبت به سطح شاهد به ترتیب ۵۰/۱۶ و ۵۰/۰۹ درصد کاهش نشان داد (جدول ۴).



شکل ۴. (a) مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و مایه‌زنی ویروس بر وزن تر اندام هوایی ارقام فلفل؛ (b) مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و مایه‌زنی ویروس بر وزن خشک اندام هوایی ارقام فلفل.

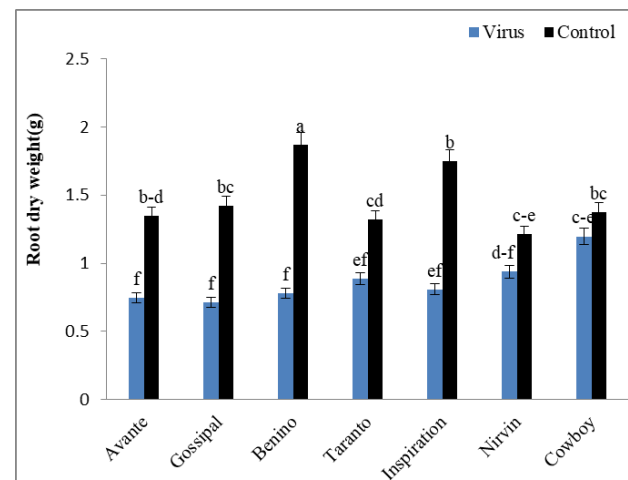


شکل ۵. (A) مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و مایه‌زنی ویروس بر وزن تر بوته ارقام فلفل؛ (b) مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و مایه‌زنی ویروس بر وزن خشک بوته ارقام فلفل.

بررسی طی شرایط شاهد و مایه‌زنی ویروس از لحاظ شاخص‌های رشدی تفاوت‌هایی وجود دارد که این اختلافات بین ارقام می‌تواند ناشی از تفاوت‌های ژنتیکی بین ارقام مورد مطالعه در راستای سازش یا تحمل گیاهان به آلودگی ویروسی باشد (Parker and Gilbert, 2004). از طرفی با توجه به نتایج مشاهده شد که مایه‌زنی ویروس سبب کاهش ارتفاع بوته (۳۱/۸۴ درصد)، وزن تر و خشک اندام هوایی (۴۶/۵۵ و ۴۶/۶۱ درصد)، وزن تر و خشک کل بوته (۵۰/۱۶ و ۵۰/۰۹ درصد)، وزن تر و خشک ریشه (۵۱/۹۳ و ۵۴/۷۶ درصد) ارقام فلفل مورد بررسی نسبت به سطح شاهد شد. این کاهش در میزان شاخص‌های رشدی مورد بررسی در ارقام مورد بررسی فلفل طی تیمار مایه‌زنی ویروس با یافته‌های مطالعه (Jafari et al., 2015) که اثر ویروس^۱ TuMV را در لاین‌ها و ارقام تجاری کلزا، (Shamali et al., 2017) که تأثیر ویروس^۲ TSV را بر ارقام مختلف سویا، (Pazarlar et al., 2013) که اثر ویروس TMV را بر برخی واریته‌های گیاه فلفل ارزیابی نمودند، هم‌خوانی دارد.

در پژوهشی اثر تیمار مایه‌زنی ویروس ToMV بر روی شاخص‌های رشدی گیاه گوجه فرنگی بررسی و نتایج نشان داد که بیشترین مقدار شاخص‌های رشدی طی تیمار شاهد مشاهده شد و تیمار مایه‌زنی سبب کاهش ۲۰/۵۲ درصدی طول ساقه، ۱۸/۵۱ درصدی طول ریشه، ۲۰/۳۲ درصدی وزن خشک اندام هوایی و ۲۵/۹۲ درصدی وزن خشک ریشه نسبت به سطح شاهد شد (Aseel et al., 2019). در راستای تأیید نتایج این تحقیق مبنی بر کاهش شاخص‌های رشدی ارقام فلفل طی تیمار آلودگی با ویروس PVY، در تحقیقی (Sofy et al., 2021) اثر ویروس AMV^۳ را بر روی گیاه بادمجان بررسی و یافته‌ها نشان داد که طی تیمار آلودگی با ویروس مقدار شاخص‌های رشدی از قبیل بیوماس کل، سطح برگ، تعداد برگ، طول ساقه و ریشه نسبت به سطح شاهد کاهش یافتند. در گزارشی دیگر اثر ویروس BYMV^۴ بر گیاه *Vicia faba* cv. Giza 461 بررسی و نتایج نشان داد که طی آلودگی با ویروس میزان شاخص‌های رشدی از قبیل طول ساقه، تعداد برگ، سطح برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی نسبت به سطح شاهد به ترتیب کاهشی ۳۵/۸۵ درصد،

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌های جدول ۲ نشان داد که تیمار مایه‌زنی ویروس بر وزن تر ریشه در سطح یک درصد معنی دار بود اما تیمار رقم و اثر متقابل رقم-مایه‌زنی تأثیر معنی‌داری بر مقدار صفت فوق نداشت. نتایج مقایسه میانگین سطوح مایه‌زنی نشان داد که طی تیمار مایه‌زنی با ویروس، وزن تر ریشه نسبت به سطح شاهد کاهشی ۶۱/۹۳ درصدی نشان داد (جدول ۴). همچنین براساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها مشاهده شد که وزن خشک ریشه تحت تأثیر تیمار مایه‌زنی و اثر متقابل رقم-مایه‌زنی قرار گرفت و اختلاف از لحاظ آماری در سطح یک درصد معنی‌دار شد اما اثر رقم معنی دار نبود (جدول ۲). براساس نتایج مقایسه میانگین اثر تیمار مایه‌زنی مشخص شد که در تیمار فوق وزن خشک ریشه ۷۱/۷۶ درصد نسبت به سطح شاهد کاهش داشت (جدول ۳). همچنین براساس نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل (شکل ۶) مشاهده شد که در تیمار مایه‌زنی با ویروس وزن خشک ریشه ارقام فلفل مورد بررسی نسبت به سطح شاهد روند کاهشی داشت به طوری که بیشترین مقدار وزن خشک ریشه در شرایط شاهد مربوط به رقم بنینو (۱/۸۷ گرم) و کمترین مقدار آن در شرایط آلودگی مربوط به رقم گاسپیل با میانگین ۰/۷۱ گرم بود هرچند که بین این رقم با ارقام آوانته و بنینو در شرایط آلودگی اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری مشاهده نشد.



شکل ۶. مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و مایه‌زنی ویروس بر وزن خشک ریشه ارقام فلفل.

بر اساس نتایج حاصل از وزن تر و خشک اندام هوایی، کل بوته و ریشه در این تحقیق مشخص شد که بین ارقام فلفل مورد

1Turnip mosaic viros

2Tobacco streak virus

3Tomato Mosaic Virus

4Alfalfa mosaic virus

5Beta yellow mosaic viros

صفات فیزیولوژیک

رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئید

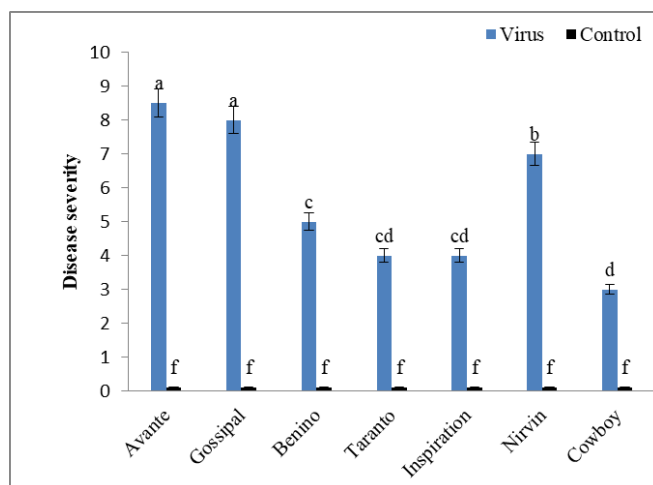
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های جدول ۵ نشان داد که اثر تیمارهای مایه‌زنی و اثر متقابل رقم مایه‌زنی بر میزان کلروفیل a در سطح یک درصد معنی‌دار می‌باشد در حالیکه اثر رقم تأثیر معنی‌داری بر میزان صفت فوق نداشت؛ همچنین بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها مشاهده شد که اثر تیمارهای رقم، مایه‌زنی و اثر متقابل رقم-مایه‌زنی بر میزان کلروفیل b و کل در سطح پنج درصد معنی‌داری بود. نتایج مقایسه میانگین سطوح جدول ۶ نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل b و کلروفیل کل به ترتیب مربوط به ارقام نیروین (۱/۵۱۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و اینسپرشین (۲/۹۶۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود در حالی که رقم گاسپیل هم دارای کمترین میزان کلروفیل b (۱/۱۳۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و هم کلروفیل کل (۲/۳۵۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود. از طرفی با توجه نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح مایه‌زنی مشخص شد که طی اعمال تیمار مایه‌زنی ویروس PVY، میزان رنگیزه‌های ارقام فلفل روندی افزایشی نشان دادند به طوری که بیشترین میزان صفات فوق طی شرایط تیمار مایه‌زنی ویروس مشاهده شد (جدول ۷). براساس نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل شکل ۴ و ۵ مشخص شد که تیمار مایه‌زنی با ویروس سبب افزایش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی ارقام فلفل مورد بررسی شد به طوری که بیشترین میزان کلروفیل a و کلروفیل کل مربوط به رقم نیروین با میانگین‌های ۲/۰۵ و ۳/۵۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و بیشترین میزان کلروفیل b هم با میانگین ۱/۶۷۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر مربوط به رقم آوانته بود که طی شرایط مایه‌زنی با ویروس حاصل شد هرچند که بین ارقام مورد بررسی طی شرایط آلودگی ویروسی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و کمترین میزان کلروفیل a (۰/۵۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کلروفیل کل (۱/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به رقم آوانته و کمترین میزان کلروفیل b (۰/۷۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) هم مربوط به رقم گاسپیل بود که طی شرایط شاهد حاصل شد (شکل ۷ و ۸).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمارهای رقم و مایه‌زنی بر میزان کاروتنوئید در سطح پنج درصد معنی‌دار بود اما اثر متقابل آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر میزان صفت فوق نداشت (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین سطوح جدول ۶ نشان داد که ارقام بنینو و آوانته به ترتیب با میانگین‌های ۱/۷۳ و

۴۰/۱۶ درصد، ۴۷/۰۷ درصد، ۴۶/۴ درصد، ۳۱/۲۶ درصد و ۴۸/۷۸ درصد داشتند (Sofy et al., 2020) که با یافته‌های این مطالعه هم‌خوانی دارد. شاخص‌های رشدی از جمله مؤلفه‌های اصلی در گیاهان است و کاهش آن‌ها توسط عوامل بیماری‌زایی همچون ویروس‌ها ممکن است به دلیل تأثیر عوامل بیماری‌زا بر سیتولوژی گیاه باشد که در نتیجه آن شاخص‌های رشدی کاهش می‌یابد (Azizi & Shamsbakhsh, 2014; Vinodkumar et al., 2017).

شدت آلودگی

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌های جدول ۲ نشان داد که شدت آلودگی تحت تأثیر سطوح رقم، مایه‌زنی ویروس و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفت و اختلاف از نظر آماری در سطح یک درصد معنی‌دار بود. بر اساس نتایج مقایسه میانگین سطوح رقم (جدول ۳)، بین ارقام فلفل مورد بررسی از نظر این صفت اختلاف معنی‌دار وجود داشت به طوری که بیشترین و کمترین شدت آلودگی به ترتیب در ارقام آوانته و کائوبا مشاهده شد، همچنین بین سطوح تیمار مایه‌زنی با ویروس و سطح شاهد نیز اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۴). براساس نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل (شکل ۷) مشاهده شد که پس از تیمار مایه‌زنی با ویروس در ارقام فلفل مورد بررسی، علائم شدت آلودگی بیشتر شد به طوری که بالاترین شدت آلودگی مربوط به رقم آوانته و گاسپیل و کمترین شدت آلودگی نیز مربوط به رقم کائوبا بود. لذا با توجه به نتایج حاصله رقم کائوبا در بین ارقام مورد بررسی کمتر تحت تأثیر آلودگی با این ویروس قرار گرفت و عکس العمل بهتری نسبت به سایر ارقام نشان داد.



شکل ۷. مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و مایه‌زنی ویروس بر شدت آلودگی ارقام فلفل.

که اعمال تیمار مایه زنی ویروس PVY سبب افزایش میزان کاروتنوئید ارقام مورد بررسی شد.

۱/۱۱ میلی گرم بر گرم وزن تر دارای بیشترین و کمترین میزان کاروتنوئید بودند. همچنین بر اساس نتایج جدول ۷ مشخص شد

جدول ۵. نتایج تجزیه واریانس برخی خصوصیات فیزیولوژیک ارقام فلفل تحت تیمار ویروس.

| Source | df | Chlorophyll a | Chlorophyll b | Chlorophyll Total | Carotenoid | Phenol | Flavonoid |
|---|----|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Variety | 6 | 0.006 ^{ns} | 0.011 [*] | 0.306 [*] | 0.4 [*] | 0.179 ^{ns} | 0.484 ^{**} |
| Inoculation | 1 | 1.82 ^{**} | 0.27 [*] | 0.19 [*] | 15.83 [*] | 0.209 ^{**} | 12.42 ^{**} |
| Interaction effect of variety × inoculation | 6 | 0.024 ^{**} | 0.03 [*] | 0.05 [*] | 0.044 ^{ns} | 0.205 [*] | 0.29 [*] |
| Error | 42 | 0.011 | 0.011 | 0.049 | 0.259 | 0.078 | 0.11 |
| CV | -- | 12.43 | 14.63 | 15.91 | 18.52 | 10.65 | 14.42 |

ns, *, **: no significant difference, significant difference at 5% and 1% level, respectively.

جدول ۶. نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح رقم بر صفات فیزیولوژیک ارقام فلفل.

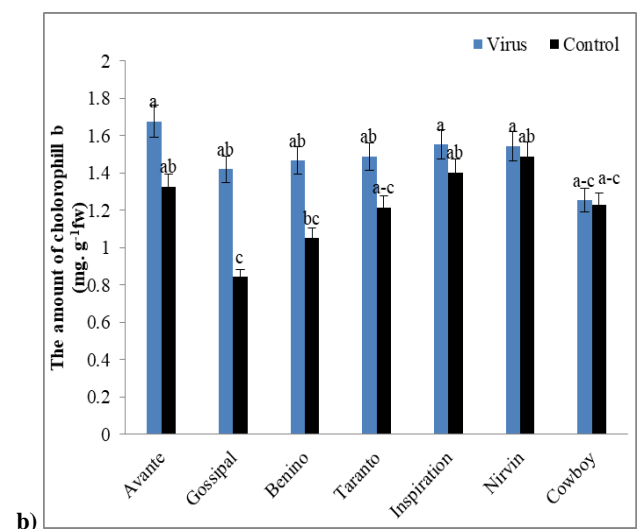
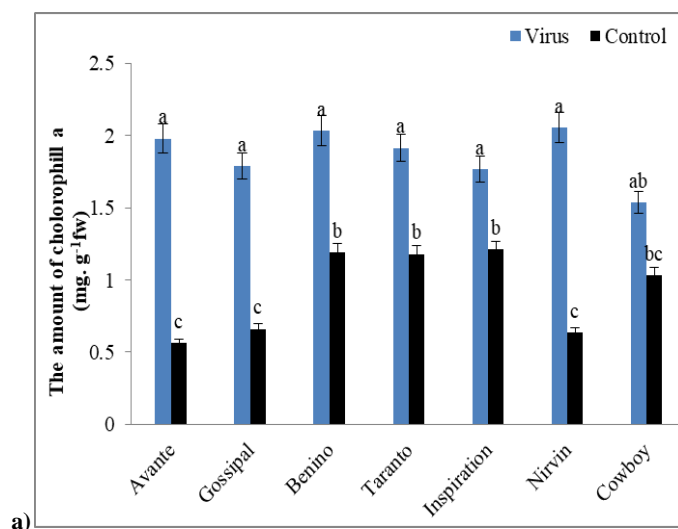
| Variety | Chlorophyll b (mg.g ⁻¹ fw) | Chlorophyll Total (mg.g ⁻¹ fw) | Carotenoid (mg.g ⁻¹ fw) | Flavonoid (mg.g ⁻¹ fw) |
|------------|---------------------------------------|---|------------------------------------|-----------------------------------|
| Avante | 1.502 a | 1.773 ab | 1.11 c | 0.898 ab |
| Gossipel | 1.131 b | 2.355 b | 1.417 b | 0.946 a |
| Benino | 1.25 ab | 2.87ab | 1.737 a | 0.71 c |
| Taranto | 1.352 ab | 2.89 ab | 1.449 b | 0.915 ab |
| Inspershin | 1.472 a | 2.987 a | 1.356 b | 0.919 a |
| Nirvin | 1.516 a | 2.862 ab | 1.492 b | 0.894 ab |
| Cauba | 1.24 ab | 2.552 ab | 1.262 bc | 0.797 cb |

Similar letters for each trait between control and treated samples indicate non-significant differences between them.

جدول ۷. نتایج مقایسه میانگین اثر سطوح مایه زنی بر صفات فیزیولوژیک ارقام فلفل.

| Inoculation Treatment | Chlorophyll a (mg.g ⁻¹ fw) | Chlorophyll b (mg.g ⁻¹ fw) | Chlorophyll Total (mg.g ⁻¹ fw) | Carotenoid (mg.g ⁻¹ fw) | Phenol (mg.g ⁻¹ fw) | Flavonoid (mg.g ⁻¹ fw) |
|-----------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---|------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| Control | 0.92 b | 1.293 a | 2.218 b | 1.346 b | 0.181 b | 0.688 b |
| Virus | 1.867 a | 1.415 a | 3.282 a | 1.460 a | 0.319 a | 1.049 a |

Similar letters for each trait between control and treated samples indicate non-significant differences between them.



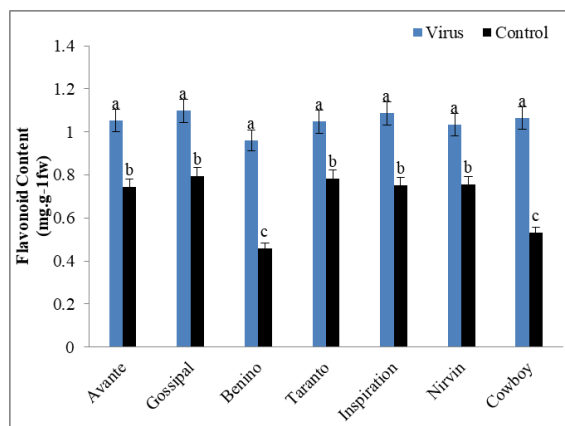
شکل ۷. (A) مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و مایه زنی ویروس بر میزان کلروفیل a ارقام فلفل؛ (b) مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و مایه زنی ویروس بر میزان کلروفیل b ارقام فلفل.

نشان داد که طی اعمال تیمار ویروس ADV میزان رنگیزه‌های فتوستنتزی از قبیل کلروفیل‌های a و b نسبت به سطح شاهد افزایش یافتند. بالا بودن میزان رنگیزه‌های فتوستنتزی در این تحقیق طی تیمار ویروس PVY ممکن است به دلیل واکنش گیاه به القا مقاومت در برابر تنش ویروسی بوده باشد زیرا گیاهان برای مقابله با هر نوع تنش زیستی یا غیرزیستی تغییرات سازگاری را در خود ایجاد می‌کنند (Atkinson & Urwin, 2012).

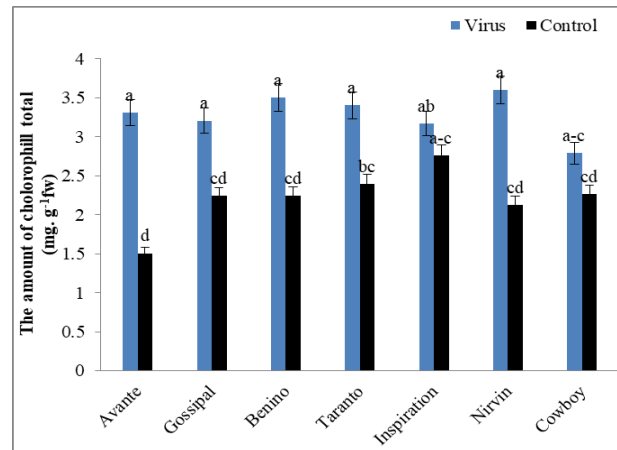
ترکیبات فیتوشیمایی

فلاونوئید

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد میزان فلاونوئید تحت تأثیر تیمارهای رقم، مایه‌زنی و اثر متقابل آن‌ها قرار گرفت به طوری که اثر تیمارهای رقم و مایه‌زنی در سطح یک درصد و اثر متقابل آن‌ها در سطح پنج درصد معنی‌دار شد (جدول ۵). بر اساس نتایج مقایسه میانگین جدول ۶ مشخص شد که میزان تغییرات فلاونوئید بین ارقام مورد بررسی فلفل متفاوت بود به طوری کمترین و بیشترین میزان صفت فوق به ترتیب با میانگین‌های ۰/۷۱ و ۰/۹۴۶ مربوط به ارقام بنینو و گاسپیل بود، از طرفی بر اساس نتایج اثر متقابل مشاهده شد که تیمار مایه‌زنی با ویروس سبب افزایش میزان فلاونوئید در تمامی ارقام فلفل مورد بررسی شد به طوری که بین ارقام مورد بررسی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و بیشترین میزان مربوط به رقم گاسپیل (۱/۰۹۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به همراه سایر ارقام مورد بررسی بود. کمترین میزان صفت فوق هم مربوط به رقم بنینو (۰/۴۵۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) می‌باشد که طی شرایط شاهد (عدم تیمار مایه‌زنی) به دست آمد (شکل ۹).



شکل ۹. مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و مایه‌زنی ویروس بر میزان فلاونوئید ارقام فلفل.



شکل ۸. مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و مایه‌زنی ویروس بر میزان کلروفیل کل ارقام فلفل.

محتوی رنگیزه‌های فتوستنتزی در گیاهان زنده یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوستنتزی (Jiang & Huang, 2001) و تعیین‌کننده سرعت فتوستنتز است (Ghosh *et al.*, 2004) و تغییرات در غلظت آن به عنوان یک واکنش کوتاه مدت در شرایط نامساعد رشدی در نظر گرفته می‌شود (Jiang & Huang, 2002). به طور کلی در محث افزایش یا کاهش محتوی کلروفیل‌ها تحت شرایط تنش ویروس نتایج متناقضی بر حسب گونه‌های گیاهی وجود دارد به طوری که در برخی گزارش‌ها افزایشی (Liu *et al.*, 2016; Jaime *et al.*, 2019) و در برخی دیگر کاهش (Choudhury *et al.*, 2019; Sofy *et al.*, 2020) می‌باشد و براساس یافته‌های این مطالعه مشخص شد که تیمار مایه‌زنی ویروس PVY سبب افزایش محتوی رنگیزه‌های فتوستنتزی ارقام فلفل مورد بررسی شد به طوری که طی تنش ویروس میزان کلروفیل‌های a, b, کل و کاروتنوئید نسبت به سطح شاهد به ترتیب افزایشی ۵۰/۷۲، ۸/۶۲، ۳۳/۰۶ و ۸/۶۴ درصدی نشان دادند. این افزایش در میزان رنگیزه‌های فوق با یافته‌های مطالعه Harethabadi *et al.* (2023) در گوجه فرنگی و Hadi *et al.* (2015) در گیاه سیب‌زمینی هم‌خوانی دارد. این محققین در آزمایشات خود بیان کردند که در گیاهان گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی آلوده به ویروس‌های TSWV و PVY میزان رنگیزه‌های فتوستنتزی نسبت به گیاهان سالم به طور معنی‌داری بیشتر بود. در تحقیق دیگری Jaime *et al.* (2019) اثر ویروس^۲ ADV را بر گیاه یونجه بررسی و نتایج

¹ Tomato spotted wilt virus

² Alfalfa dwarf virus

فلفل مورد بررسي شد به طوري كه بيشترين ميزان مربوط به رقم گاسپيل (۰/۳۹۹ ميلي گرم بر گرم وزن تر) به همراه رقم كائوبا بود كه طی اعمال تیمار مایه زنی حاصل شد و كمترین میزان صفت فوق هم مربوط به رقم كائوبا (۰/۱۱ ميلي گرم بر گرم وزن تر) می باشد كه طی شرایط شاهد (عدم تیمار مایه زنی) به دست آمد.

تركيبهای فنلی شامل گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه هستند كه بسیاری از تركيبهای حلقوی مثل تركيبهای فنل، فلاون‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها و لیگنین‌ها و حتی اسیدهای آمینه حلقوی مثل تریپتوفان، تیروزین و پرولین را شامل می‌شوند. این تركيبها دارای نقش‌های متعدد اکولوژیکی و فیزیولوژیکی نظیر نقش‌های دفاعی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشند و تركيبات فنولی با مکانیسم‌های متعددی مثل جاروب کردن رادیکال‌های آزاد و قطع کردن واكنش‌های زنجیره‌وار اكسیداسیون، اهدای هیدروژن، حذف اكسیژن یكتایی، كلات کردن یون‌های فلزی و یا قرار گرفتن به عنوان سوبسترای آنزیم‌های پراكسیداز نقش آنتی‌اكسیدانی خود را ایفا می‌کنند. این تركيبات همچنین با اهدای سریع هیدروژن به رادیکال‌های لیپید از ادامه زنجیره پراكسیداسیون ممانعت می‌کنند و قادرند محصولاتی با قدرت اكسیدكنندگی کمتر از تركيب‌های اولیه به وجود آورند (Tamadon & Dashat, 2021; Chu *et al.*, 2000).

این تركيبات در اثر محرک‌های متعدد محیطی نظیر حملات میکروبی، پرتوهای فرابنفش و تنش‌های فیزیکی و شیمیایی محیطی گزارش شده است (Ghorbani *et al.*, 2016; André *et al.*, 2009). بر اساس نتایج این مطالعه میزان تركيبات فنولی در ارقام فلفل مورد بررسي از قبیل آوانته، گاسپیل، بنینو، تاراتو، اینسپرشین، نیروین و كائوبا طی تیمار ويروس نسبت به سطح شاهد خودشان به ترتیب افزایشی ۴۰/۶۳، ۳۵/۶۶، ۴۰/۱۲، ۴۱/۳۴، ۱۱/۳۴، ۶۴/۳۳، ۳۲/۶۶ و ۷۰/۱۸ درصدی نشان دادند و این افزایش در میزان تركيب فوق با یافته‌های مطالعه محققان در گوجه‌فرنگی آلوده به ويروس PVX^۱ (Teraoka & Balogun, 2004)، توتون آلوده به ويروس PVY (Abdolahi *et al.*, 2014)، چغندر آلوده به ويروس BNYVV (Ghorbani *et al.*, 2016) و ريحان آلوده به ويروس CMV^۲ (Saadati *et al.*, 2021) هم‌راستا است. این محققين در نتایج خود بیان کرده‌اند كه طی تیمار ويروس میزان فنول كل در گیاهان مورد بررسي نسبت به

فلاونوئیدها گروه پیچیده‌ای از تركيب‌های فنولی هستند كه به طور مستقیم باعث مهار مولكول‌های فعال سوپر اكسید، پر اكسید هیدروژن، و رادیکال‌های هیدروكسیل می‌گردد و مانند اسیدهای فنلی، استیلن، تانن‌ها، لیگنان‌ها و لیگنین‌ها معمولاً در برگ‌ها و بخش‌های چوبی مانند ساقه و شاخه وجود دارند كه در مواجهه با عوامل بیماریزا و شرایط نامساعد رشدی در بافت‌های مختلف گیاهان تولید و به عنوان پیام‌رسان در گیاهان عمل و منجر به سازگاری گیاه به شرایط تنش می‌شوند (Cook & Samman, 1996; Jaakola *et al.*, 2002).

بر اساس نتایج این مطالعه میزان تركيبات فلاونوئیدی در ارقام فلفل مورد بررسي از قبیل آوانته، گاسپیل، بنینو، تاراتو، اینسپرشین، نیروین و كائوبا طی تیمار ويروس نسبت به سطح شاهد خودشان به ترتیب افزایشی ۲۹/۴۳، ۲۶/۷۶، ۵۲/۲۳، ۲۵/۲۵، ۳۰/۷۷، ۲۶/۷۶ و ۵۰/۲۳ درصدی نشان دادند و این افزایش در میزان تركيب فوق با یافته‌های Aseel *et al.* (2019) كه اثر ويروس ToMV را بر گیاه گوجه‌فرنگی مطالعه کردند، هم‌خوانی دارد. این محققين در نتایج خود بیان کرده‌اند كه طی تیمار ويروس میزان فلاونوئید در گیاهان مورد بررسي نسبت به سطوح شاهد افزایش معنی‌داری دارند كه تاییدی بر نتایج مطالعه فوق می‌باشد. در تحقیقی در سال ۲۰۲۱ اثر ويروس AMV را بر گیاه بادمجان بررسي و نتایج نشان داد كه میزان فلاونوئید كل در بوته‌های آلوده به ويروس بیشتر از بوته‌های سالم بود كه با یافته‌های این مطالعه مبنی بر اینکه طی تنش یا آلودگی با ويروس میزان فلاونوئید ارقام فلفل مورد بررسي افزایش می‌یابد، هم‌راستا است (Sofy *et al.*, 2021).

فنول

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های جدول ۵ نشان داد كه اثر تیمارهای مایه‌زنی و اثر متقابل رقم-مایه‌زنی بر میزان فنول به ترتیب در سطح یک و پنج درصد معنی‌دار شد در حالی اثر رقم تأثیر معنی‌داری بر میزان صفت فوق نداشت. بر اساس نتایج مقایسه میانگین سطوح تیمار مایه‌زنی مشخص شد كه اعمال تیمار مایه‌زنی ويروس PVY، میزان فنول روندی افزایشی داشت به طوري بيشترين میزان صفت فوق با میانگین ۰/۳۱۹ ميلي گرم بر گرم وزن تر طی اعمال تیمار ويروس مشاهده شد (جدول ۷). بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل (شکل ۱۰) مشخص شد كه تیمار مایه‌زنی با ويروس سبب افزایش میزان فنول ارقام

1Potato Virus X

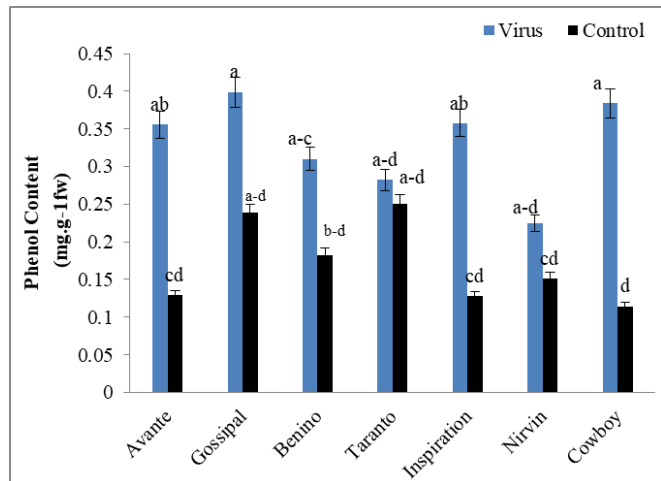
2Beet Necrotic Yellow Vein Virus

3Cucumber mosaic virus-Fny

نتیجه گیری و پیشنهادها

به طور کلی نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که پس اعمال آلودگی ویروسی و تأیید آلودگی در هر هفت رقم فلفل مورد بررسی، کاهش صفات مورفولوژیکی چون ارتفاع بوته، وزن تر و خشک ریشه، اندام هوایی و بوته‌ها مشاهده شد و در مقابل افزایش محتوی رنگیزه‌های فتوسنتزی، فنول کل و فلاونوئید مشاهده گردید. به گونه‌ای که در شرایط آلودگی بیشترین وزن خشک ریشه، وزن تر و خشک بوته، وزن تر و خشک اندام هوایی و همچنین میزان فنول و فلاونوئید و همچنین کمترین علائم شدت آلودگی مربوط به رقم کائوبا بود، در حالی که در شرایط شاهد رقم بنینو دارای بیشترین وزن خشک ریشه، وزن تر و خشک بوته، وزن تر و خشک اندام هوایی و همچنین مقدار کلروفیل a بود. لذا با بررسی و مقایسه ارقام پس از اعمال آلودگی با ویروس مورد مطالعه در مرحله گیاهچه‌ای، رقم کائوبا نسبت به سایر ارقام کمتر تحت تأثیر آلودگی قرار گرفته و عکس العمل بهتری را در مواجهه با آلودگی ویروسی نشان داده است. بنابراین بر اساس نتایج پژوهش حاضر می‌توان این گونه بیان کرد که آلودگی ویروسی سبب تغییرات موفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی در گیاهان آلوده نسبت به سطح شاهد شد و افزایش یا کاهش میزان صفات مورد بررسی، وابسته به برهمکنش ویروس و ارقام بوده که به نظر می‌رسد این امر هماهنگ می‌تواند با واکنش حساسیت یا مقاومت ارقام در برابر آلودگی ویروسی مرتبط باشد. لذا با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان رقم کائوبا را در بین هفت رقم مورد بررسی فلفل جهت کشت برای مناطق آلوده به PVY و همچنین برای مطالعات آتی به‌نژادی و اصلاح ارقام فلفل پیشنهاد نمود.

سطوح شاهد افزایش معنی‌داری دارند که تأییدی بر نتایج مطالعه فوق می‌باشد. در پژوهشی Sofy *et al.* (2021) اثر ویروس *Alfalfa mosaic virus* را بر گیاه بادمجان بررسی و نتایج نشان داد که میزان فنول کل در بوته‌های آلوده به ویروس بیشتر از بوته‌های سالم بود که با یافته‌های این مطالعه همخوانی دارد. بر اساس نظر محققان افزایش ترکیبات فنولی در گیاهان آلوده به قارچ و ویروس در پاسخ به آلودگی آزاد و در محل رخ داد آلودگی به سرعت تجمع و با ترکیبات سلول‌های دیواره متصل می‌شود که در نتیجه این امر ترکیبات ساختمانی گیاه را تقویت و یا به دلیل تجمع در محل آلودگی باعث غیر فعال شدن آنزیم‌های ویروس و قارچ می‌شود (Madadkhan *et al.*, 2012; Wallace & Fry, 1994; Goodman *et al.*, 1980).



شکل ۱۰. مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و مایه‌زنی ویروس بر میزان فنول ارقام فلفل.

References

- Aghmolaie, A., Nasrollanejad, S., Mostafavi Neishabouri, F. (2015). Tracking and determination of *Potato virus Y* strain by DAS-ELISA and RT-PCR from pepper fields in Golestan province. *Applied Research in Herbal Medicine* 5(1), 183-193.
- Abdolahi, A., Nasrollanejad, S., Jafari, S., Yazdaniyan, M., Taghinasab, M., (2014). Investigating changes in the amount of protein and phenolic compounds in the leaves of susceptible and resistant tobacco cultivars infected with PVY. *Plant Production Research* 22(3), 129-153 (In Persian with English abstract).
- André, C. M., Schafleitner, R., Legay, S., Lefèvre, I., Aliaga, C. A. A., Nomberto, G., ... & Evers, D. (2009). Gene expression changes related to the production of phenolic compounds in potato tubers grown under drought stress. *Phytochemistry*, 70(9), 1107-1116.
- Aseel, D. G., Rashad, Y. M., & Hammad, S. M. (2019). Arbuscular mycorrhizal fungi trigger transcriptional expression of flavonoid and chlorogenic acid biosynthetic pathways genes in tomato against Tomato Mosaic Virus. *Scientific reports*, 9(1), 9692.
- Atkinson, N. J., & Urwin, P. E. (2012). The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *Journal of experimental botany*, 63(10), 3523-3543.
- Azizi, A., & Shams-Bakhsh, M. (2014). Impact of cucumber mosaic virus infection on the varietal

- traits of common bean cultivars in Iran. *Virus Disease*, 25, 447-454.
- Baebler, Š., Coll, A., & Gruden, K. (2020). Plant molecular responses to Potato Virus Y: A continuum of outcomes from sensitivity and tolerance to resistance. *Viruses*, 12(2), 217.
- Balogun, O. S., & Teraoka, T. (2004). Time-course analysis of the accumulation of phenols in tomato seedlings infected with Potato Virus X and Tobacco mosaic virus. *Biokemistri*, 16(2), 112-120.
- Boonham, N., Walsh, K., Preston, S., North, J., Smith, P., & Barker, I. (2002). The detection of tuber necrotic isolates of Potato virus Y, and the accurate discrimination of PVYO, PVYN and PVYC strains using RT-PCR. *Journal of virological methods*, 102(1-2), 103-112.
- Chu, Y. H., Chang, C. L., & Hsu, H. F. (2000). Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(5), 561-566
- Clark, M. F., & Adams, A. (1977). Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of general virology*, 34(3), 475-483.
- Cook, N. C., & Samman, S. (1996). Flavonoids—chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 7(2), 66-76.
- Dere, Ş., Güneş, T., & Sivaci, R. (1998). Spectrophotometric determination of chlorophyll-A, B and totalcarotenoid contents of some algae species using different solvents. *Turkish journal of Botany*, 22(1), 13-18.
- Fahmideh, L., Mazarie, A., Pahlavan, P., & Madadi, S. (2022). Effect of salinity stress on some morphophysiological and biochemical traits of two barley cultivars. *Journal of Plant Process and Function*, 11(50), 275-292.
- Fallah, T., & Nasrollanejad, S. (2009). Detection and distribution of PNRSV on stone fruits in Golestan provinces. *Journal of Plant Production*, 16, 88-98.
- Fakhrabad, F. Z., Nasrollanejad, S., Ahmadikhah, A., & Taghinasab, M. (2012). Sequencing of three isolates and prevalence of Potato virus Y in Tobacco fields of Golestan province, and phylogenetic comparison of the Iranian and world isolates of the virus. *Iranian Journal of Plant Pathology*, 48(3).
- Fan, X., Cao, X., Zhou, H., Hao, L., Dong, W., He, C., ... & Zheng, Y. (2020). Carbon dioxide fertilization effect on plant growth under soil water stress associates with changes in stomatal traits, leaf photosynthesis, and foliar nitrogen of bell pepper (*Capsicum annuum* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 179, 104203.
- Ghorbani, A., Alamzadeh, E., Hamze, Z., Izadpanah, K. (2016). Comparison of physiological changes of resistant and sensitive sugar beet cultivars infected with *Sugar beet vein necrotic yellows virus*. *Sugar Beet* 33(2), 209-219.
- Ghosh, P. K., Ramesh, P., Bandyopadhyay, K. K., Tripathi, A. K., Hati, K. M., Misra, A. K., & Acharya, C. L. (2004). Comparative effectiveness of cattle manure, poultry manure, phosphocompost and fertilizer-NPK on three cropping systems in vertisols of semi-arid tropics. I. Crop yields and system performance. *Bioresource Technology*, 95(1), 77-83.
- Glais, L., Bellstedt, D. U., & Lacomme, C. (2017). Diversity, characterisation and classification of PVY. *Potato virus Y: Biodiversity, Pathogenicity, Epidemiology and Management*, 43-76.
- Goodman, R. N., Király, Z., & Wood, K. R. (1986). *The biochemistry and physiology of plant disease* (pp. xii+433).
- Gull, A., Lone, A. A., & Wani, N. U. I. (2019). Biotic and abiotic stresses in plants. *Abiotic and biotic stress in plants*, 7, 1-9.
- Jaakola, L., Määttä, K., Pirttilä, A. M., Törrönen, R., Kärenlampi, S., & Hohtola, A. (2002). Expression of genes involved in anthocyanin biosynthesis in relation to anthocyanin, proanthocyanidin, and flavonol levels during bilberry fruit development. *Plant Physiology*, 130(2), 729-739.
- Jafari, M., Shamsbakhsh, M., Moini, A. (2015). Reaction of commercial cultivars and rapeseed lines to *Turnip mosaic virus* isolate. *Plant Diseases* 52(2), 147-159.
- Jaime, C., Muchut, S. E., Reutemann, A. G., Gioco, J. O., & Dunger, G. (2020). Morphological changes, alteration of photosynthetic parameters and chlorophyll production induced by infection with alfalfa dwarf virus in *Medicago sativa* plants. *Plant Pathology*, 69(2), 393-402.
- Jiang, Y., & Huang, B. (2001). Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Science*, 41(2), 436-442.
- Jafarpour, B. (1992). *Methods in Plant Virology*. Ferdosi University Press, 207p.

- Hadi, M., Balali Dehkordi, Gh., Mousavi, S.M., Hosseini, F. (2015). The effect of salicylic acid on reducing the damage caused by Y. Bazmini virus in Marfona and Agria cultivars. *Iranian Plant Biology* 6(20), 171-183.
- Haghpahanah, K., Mirfakhraee, S., Khodadadi, M., Shamsifar, S. (2020). Study on Genetic Diversity of some Barley (*Hordeum vulgare* L.) Cultivars using SSR Marker and Physiological Traits Plant Pigments and Proline under Late Cold Stress. *Journal of Crop Breeding* 12 (34), 199-209.
- Harethabadi, N., Hosseini, S. A., Amini Fard M. (2023). Investigating the interaction of *Tomato spotted wilt virus* and iron on some physiological characteristics of tomato under greenhouse conditions. *Horticultural Sciences* 37(1), 205-217.
- Hu, X., Nie, X., He, C., & Xiong, X. (2011). Differential pathogenicity of two different recombinant PVY^{NTN} isolates in *Physalis floridana* is likely determined by the coat protein gene. *Virology Journal*, 8, 1-5.
- Kežar, A., Kavčič, L., Polák, M., Nováček, J., Gutiérrez-Aguirre, I., Žnidarič, M. T., ... & Podobnik, M. (2019). Structural basis for the multitasking nature of the potato virus Y coat protein. *Science Advances*, 5(7), eaaw3808.
- Kiani, S., Babaeianjelodar, N., Bagheri, N., & Najafzarrini, H. (2018). Effect of mannitol stress on morphological, biochemical and polyphenol parameters in broccoli sprouts (*Brassica oleracea* var. Italica). *Applied Ecology & Environmental Research*, 16(2).
- Kim, D. O., Lee, K. W., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3713-3717.
- Kreuze, J. F., Souza-Dias, J. A. C., Jeevalatha, A., Figueira, A. R., Valkonen, J. P. T., & Jones, R. A. C. (2020). Viral diseases in potato. *The potato crop: its agricultural, nutritional and social contribution to humankind*, 389-430.
- Liu, X., Feng, Z. M., Zhou, C. L., Ren, Y. K., Mou, C. L., Wu, T., ... & Wan, J. M. (2016). Brassinosteroid (BR) biosynthetic gene lhdd10 controls late heading and plant height in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant cell reports*, 35, 357-368.
- Madadkhah, E., Lotfi, M., Nabipour, A., Rahmanpour, S., Banihashemi, Z., & Shoorooei, M. (2012). Enzymatic activities in roots of melon genotypes infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race 1. *Scientia Horticulturae*, 135, 171-176.
- Mishra, J., Srivastava, R., Trivedi, P. K., & Verma, P. C. (2020). Effect of virus infection on the secondary metabolite production and phytohormone biosynthesis in plants. *3 Biotech*, 10(12), 547.
- Mofunanya, A. A. J., Owolabi, A. T., & Nkang, A. (2015). Comparative study of the effect of Telfairia mosaic virus (TEMV) on the growth characteristics of two ecotypes of *Telfairia occidentalis* (hooker fil). *International Journal of Virology*, 11(2), 54-65.
- Ordóñez, A. A. L., Gomez, J. D., & Vattuone, M. A. (2006). Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts. *Food Chemistry*, 97(3), 452-458.
- Parker, I. M., & Gilbert, G. S. (2004). The evolutionary ecology of novel plant-pathogen interactions. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 35(1), 675-700.
- Pazarlar, S., Gümüş, M., & Öztekin, G. B. (2013). The effects of tobacco mosaic virus infection on growth and physiological parameters in some pepper varieties (*Capsicum annum* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41(2), 427-433.
- Rodríguez-Calzada, T., Qian, M., Strid, Å., Neugart, S., Schreiner, M., Torres-Pacheco, I., & Guevara-González, R. G. (2019). Effect of UV-B radiation on morphology, phenolic compound production, gene expression, and subsequent drought stress responses in chili pepper (*Capsicum annum* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 134, 94-102.
- Saadati, M., Ayari, M., Shams Bakhsh, M. (2021). The effect of Fny isolate of *Cucumber mosaic virus* infection on the physiological and phytochemical characteristics of three indigenous stands of green basil (*Ocimum basilicum* L.). *Plant Diseases* 57(4), 303-319.
- Shamali, S., Rakhshande, R. F., Safarnejad, M., Ramzanpour, S. S. (2017). The effect of *Tobacco streak virus* on podding of different soybean cultivars under greenhouse conditions. *Plant Pests and Diseases*. 86(2), 133-145 .
- Sharifi-nezamabad, P., Nasrollanejad, S., Aghajani, M. A., Dizadji, A., Nadimi, A. (2019). The *Potato virus Y* main disease indicators in tobacco fields of Golestan province. *Pest and diseases Journal* 87(2), 227-240.
- Sofy, A. R., Hmed, A. A., Abd EL-Aleem, M. A., Dawoud, R. A., Elshaarawy, R. F., & Sofy, M. R. (2020). Mitigating effects of Bean yellow mosaic virus infection in faba bean using new carboxymethyl chitosan-titanium

- nanobiocomposites. *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 1261-1275.
- Tamadon, L., & Riasat, M. (2021). Effect of drought stress on some morphophysiological characteristics and phenolic compounds of rosemary plant (*Rosmarinus officinalis* L.). *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 14(2), 439-448.
- Umar, O. B., Ranti, L. A., Abdalbaki, A. S., Bola, A. L., Abdulhamid, A. K., Biola, M. R., & Victor, K. O. (2021). Stresses in plants: Biotic and abiotic. *Current Trends in Wheat Research*, 1-8.
- Verma, S., Nizam, S., & Verma, P. K. (2013). Biotic and abiotic stress signaling in plants. *Stress Signaling in Plants: Genomics and Proteomics Perspective, Volume 1*, 25-49.
- Verrier, J. L., Marchand, V., Cailleteau, B., & Delon, R. (2001). Chemical change and cigarette smoke mutagenicity increase associated with CMV-DTL and PVY-N infection in burley tobacco. In *Proceedings of the Cooperation Centre for Scientific Research Relative to Tobacco Meeting Agro-Phyto Groups, 2001, Cape Town, South Africa* (p. 29).
- Vinodkumar, S., Nakkeeran, S., Malathi, V. G., Karthikeyan, G., Amala Balu, P., Mohankumar, S., & Renukadevi, P. (2017). Tobacco streak virus: an emerging threat to cotton cultivation in India. *Phytoparasitica*, 45, 729-743.
- Wallace, G., & Fry, S. C. (1994). Phenolic components of the plant cell wall. *International review of cytology*, 151, 229-267.
- Zamljen, T., Zupanc, V., & Slatnar, A. (2020). Influence of irrigation on yield and primary and secondary metabolites in two chilies species, *Capsicum annum* L. and *Capsicum chinense* Jacq. *Agricultural Water Management*, 234, 106104.
- Zhang, F. T., Cheng, L. F., Geng, C., Tian, Y. P., Yuan, X. F., Bai, Y. J., & Li, X. D. (2019). Detection and identification of a Potato virus Y (PVY) NTN-NW isolate from potato in Heilongjiang, China.