

## بررسی تغییرات برخی آنزیم‌های مرتبط با سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه لوبیا در برابر بیمارگر *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*

فاطمه دریکوند، عیدی بازگیر، مصطفی درویش نیا و حسین میرزایی نجفقلی

گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

مسئول مکاتبات: فاطمه دریکوند، derikvand.fat@fa.lu.ac.ir

**چکیده.** آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در دفاع گیاهان در برابر عوامل بیماری‌زا ایفا می‌کنند. پس از شناسایی بیمارگر توسط گیاهان یکی از اولین پاسخ‌های دفاعی گیاه تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) است. به منظور حفظ تعادل سطح ROS و جلوگیری از اثرات زیان بار آن‌ها، گیاهان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پراکسیداز (POX)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و سوپراکسیداز دیسموتاز (SOD) را تولید می‌نمایند. در پژوهش حاضر مقاومت ارقام لوبیا شامل صدری، پاک، درخشان و درسا به باکتری *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap) در گلخانه بررسی شد. فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در بوته‌های لوبیای رقم‌های صدری و درخشان سالم و آلوده به Xap در زمان‌های صفر، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی بیمارگر، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با پنج تیمار و چهار تکرار سنجیده شد. نتایج نشان داد که تمام رقم‌های لوبیا علائم بیماری را نشان دادند. ارقام لوبیا درخشان با ۵۸/۳۳ درصد و صدری با ۸۰/۵۶ درصد علائم به ترتیب کم‌ترین و بیش‌ترین شدت علائم را بعد از ۲۰ روز نشان دادند. بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از مایه‌زنی مشاهده شد و در فاصله ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از مایه‌زنی کاهش یافت. فعالیت این آنزیم‌ها در رقم حساس نسبت به رقم نیمه مقاوم کم‌تر بود. همچنین میزان کلروفیل a و b در گیاهان بیمار نسبت به گیاهان سالم کاهش معنی‌داری نشان داد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده رقم درخشان به‌عنوان یک رقم با مقاومت نسبی برای کشت در مناطق شیوع بیماری پیشنهاد می‌شود.

**واژه‌های کلیدی.** آسکوربات پراکسیداز، پروکسیداز، دفاع گیاه، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز

## Fluctuation in some enzymes related to antioxidant defense system in common bean against *Xanthomonas axonopodis* pv. *Phaseoli*

Fateme Derikvand, Eidi Bazgir, Mostafa Darvishnia & Hossein Mirzaei Najafgholi

Department of Plant Protection, College of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

Correspondent author: Fateme Derikvand, derikvand.fat@fa.lu.ac.ir

**Abstract.** Antioxidant enzymes play an important role in plant defense against pathogenic agents. Following the identification of the pathogen, plants produce active oxygen species (ROS) as one of their first defense responses. To maintain the balance of ROS levels and prevent their harmful effects, plants produce antioxidant peroxidase (POX), catalase (CAT), ascorbate peroxidase (APX) and superoxide dismutase (SOD) enzymes. In the present study, the resistance of bean plants cultivars, namely Sadri, Paak, Darakhshan and Dorsa, to *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap) were studied in greenhouse conditions. The catalase, peroxidase and ascorbate peroxidase enzyme activities were studied in healthy and Xap-infected bean cultivars Sadri and Derakhshan at 0, 24, 48, 72 hours and 20 days post inoculation by a completely randomized design with 5 treatments and 4 replications. The result showed that disease symptoms appeared in all tested cultivars. Derakhshan and Sadri cultivars, with 58.33 and 80.56 percentages of infected plants 20 days after inoculation, showed the least and highest infection rates, respectively. The highest catalase and peroxidase activities were recorded 24 and 48h post inoculation. These records reduced 48 and 72 hours post inoculation, respectively. The activities of these two enzymes in the susceptible cultivar were less than those in the semi-resistant one. The chlorophyll a and chlorophyll b contents of Xap-infected plants reduced significantly. The total chlorophyll content of uninfected Sadri and Darakhshan cultivars were 2.93 and 3.23  $\mu\text{g/g}$ , respectively, which reduced to 1.96 and 2.14  $\mu\text{g/g}$  of leaf tissue in infected plants, respectively. Based on these results, it is suggested that the Derakhshan cultivar should be planted in disease-susceptible regions as the semi-resistant cultivar.

**Keywords.** ascorbate peroxidase, peroxidase, plant defense, superoxide dismutase, catalase

## مقدمه

بیماری سوختگی معمولی لوبیا با عامل (Smith 1897) *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* یکی از مهم‌ترین بیماری‌های لوبیا است (Richards & Roberts, 2016). باکتری عامل بیماری علاوه بر لوبیا، گیاهانی چون سویا، لوبیا چشم‌بلبلی، سلمه‌تره، ذرت، تاج‌خروس، خرفه، اوپارسلام، تاجریزی، ارزن و مرغ را نیز آلوده می‌کند (Karavina *et al.*, 1991; Angeles-Ramos *et al.*, 2011). عامل اصلی انتشار و گسترش بیماری در فواصل طولانی، انتقال و کاشت بذور آلوده به باکتری است. همچنین گسترش آن داخل مزرعه توسط سیستم آبیاری بارانی صورت می‌گیرد. از علائم بارز بیماری سوختگی معمولی لوبیا، لکه‌های آب‌سوخته روی برگ است که به مرور زمان تبدیل به لکه‌های نکروز با هاله زردرنگ می‌شود (Chatterton *et al.*, 2008; Darsonval *et al.*, 2008). میزان تولید حبوبات در کشور در سال زراعی ۹۳-۱۳۹۲، حدود ۶۷۰ هزار تن است که از این مقدار ۲۸ درصد آن مربوط به تولید لوبیا است. سطح زیر کشت در استان لرستان ۱۷۰۰۰ هکتار و تولید محصول ۲۰۰۰ کیلوگرم در هکتار است (Ebadzadeh *et al.*, 2017). این بیماری در سال‌های اخیر، کشت محصول لوبیا را در استان‌های لرستان، مرکزی، همدان و چهارمحال بختیاری با چالش جدی رو به رو ساخته است (Lak *et al.*, 2002). در زمینه کنترل این بیماری بخصوص در استفاده از ارقام مقاوم تحقیقات زیادی انجام شده است. اما تعداد محدودی رقم و لاین مقاوم به عامل بیماری گزارش شده است. از این‌رو غربالگری ارقام مختلف لوبیا در برابر سوختگی معمولی لوبیا به‌عنوان یک معیار مهم در تولید این محصول در نظر گرفته شده است (Todorovic *et al.*, 2008).

در مواجهه با عوامل بیماری‌زا تغییراتی در ساختمان سلولی و غشای سیتوپلاسمی ارقام مختلف گیاهی ایجاد می‌شود که از جمله مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به واکنش‌های دفاعی مرتبط با غشاء سیتوپلاسمی سلول، آزادسازی و انباشته کردن گونه‌های اکسیژن فعال و آنزیم‌های لیپواکسیژناز اشاره نمود (Agrios, 2005). در واقع یکی از اولین پاسخ‌های دفاعی گیاه در مقابله با عوامل بیماری‌زای گیاهی، تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) است (Bolwell & Daudi, 2009). ROSها در پدیده انفجار اکسیداتیو (تجمع سریع ROSها در محل نفوذ بیمارگر) سبب حذف مستقیم بیمارگر و محدود کردن بیمارگر در محل آلودگی طی پدیده فوق‌حساسیت می‌شوند. همچنین این ترکیبات به عنوان پیام‌رسان‌های ثانویه سبب القا چندین پاسخ مقاومتی مانند پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی، فیتوالکسین‌ها و مرگ

برنامه‌ریزی شده سلول در سلول‌های تحت تنش و سلول‌های مجاور می‌شوند. از طرفی سیگنال‌های ROS با دیگر تنظیم‌کننده‌های دفاعی گیاه مانند سالیسیلیک‌اسید (SA)، نیتریک‌اسید (NO)، متابولیسم کلسیم، اتیلن و جاسمونیک‌اسید (JA) در تعامل هستند (Bolwell & Daudi, 2009). گونه‌های اکسیژن فعال شامل رادیکال‌های سوپراکسید آنیون و هیدروکسید به‌عنوان محصولاتی از واکنش‌های اکسایش-کاهش و نتیجه‌ای از واکنش‌های متابولیسم هوازی هستند (Halliwell, 2006)، که سبب تولید رادیکال‌های سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن یا رادیکال هیدروکسیل در سلول‌های گیاهی می‌شوند. هیدروژن پراکسید ماده‌ای سمی است که تجمع این ماده برای سلول‌ها و بافت‌ها بسیار آسیب‌رسان است و باید بلافاصله تجزیه شود (Mallick & Mohn, 2001). در واقع این گونه‌های فعال اکسیژن برای خود گیاه در غلظت‌های بالا می‌تواند کشنده باشند و سبب مرگ سلول‌های گیاهی شوند (Bolwell & Daudi, 2009). به منظور جلوگیری از اثرات زیان‌بار گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و حفظ سطح تعادل ROS، سلول‌های گیاه آنزیم‌های پراکسیداز (POX)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و سوپراکسیداز دیسموتاز (SOD) را تولید می‌کنند (Bolwell *et al.*, 2002). هر کدام از این آنزیم‌ها در مقاطع و زمان خاصی پس از حمله بیمارگر به گیاه میزبان ظاهر می‌شوند (Agrios, 2005). تعامل بین SOD، APX و CAT در سلول‌ها نقطه بحرانی در حفظ سطح پایدار ROSها است. ابتدا SOD، O<sup>2-</sup> را به H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> تبدیل می‌کند. سپس H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> توسط CAT و APX در طی چرخه‌های آنتی‌اکسیدانی در اندام‌های مختلف سم‌زدایی می‌شود. در واقع CAT مسئول اصلی حذف ROSها است و APX بیشتر مسئول تعدیل ROSها در مسیر سیگنالینگ است (Mirzaei Najafgholi *et al.*, 2017).

تغییرات فعالیت آنزیم‌های مرتبط به تنش اکسیداتیو در گیاه لوبیا در مقابل بیماری سوختگی معمولی (Farahani & Taghavi, 2016)، گیاه گوجه‌فرنگی در مقابله با *X. vesicatoria* (Cavalcanti *et al.*, 2007; Itako *et al.*, 2012)، در گریپ‌فروت در مقابل بیماری شانکر مرکبات با عامل *X. citri* subsp. *citri* (Kumar *et al.*, 2011)، در گیاه برنج در مقابل بیماری سوختگی باکتریایی با عامل *X. oryzae* pv. *oryzae* (Chithrathree & Srinivas, 2012)، در درخت لیمو در برابر بیماری شانکر مرکبات با عامل *X. citri* subsp. *citri* (Rasoulnia *et al.*, 2013) و در دیگر گیاهان در مواجهه با سایر عوامل بیماری‌زای باکتریایی (kumar *et al.*, 2011; Chandrashekar & Umesha, 2012; Shobha *et al.*,

$$\text{شدت بیماری} = \frac{\text{مجموع کدهای اختصاص داده شده به گیاه}}{\text{مجموع برگ های مشاهده شده} \times \text{بزرگترین کد}} \times 100$$

### بررسی تنش اکسیداتیو گیاه تحت تاثیر باکتری Xap

بدین منظور از دو رقم لوبیا درخشان (نیمه مقاوم) و صدی (حساس) استفاده شد. در هر گلدان چهار بذر لوبیا کشت داده شد و در مرحله ۳ تا ۴ برگگی گیاه لوبیا سوسپانسیون از باکتری Xap با جمعیت  $10^8$  واحد تشکیل دهنده کلنی در میلی لیتر (CFU/ml) روی هر دو رقم اسپری پاشی شد. به منظور بررسی و میزان آنزیم‌های گیاهی شامل کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در فواصل زمانی صفر، ۲۴، ۴۸، ۷۲ ساعت و ۲۰ روز پس از مایه‌زنی از گیاهان تیمار شده همراه با شاهد سالم آن‌ها (مایه‌زنی با آب مقطر سترون) نمونه برداری انجام شد. به منظور سنجش فعالیت آنزیمی گیاه و میزان پروتئین کل، در فواصل زمانی ذکر شده، ۰/۵ گرم از برگ هر تیمار توسط نیتروژن مایع پودر شد. در مرحله بعد چهار میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم یک درصد روی نمونه‌ها ریخته شد. عصاره حاصل در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و عصاره رویی جهت اندازه گیری فعالیت‌های آنزیمی در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (Venaker et al., 1998).

### تعیین میزان پروتئین کل

بدین منظور از سرم آلبومین گاوی (BSA) به عنوان پروتئین استاندارد برای تهیه منحنی استاندارد استفاده شد. برای ساختن منحنی استاندارد ۱۰ میلی گرم BSA به ۱۰ میلی لیتر آب مقطر در داخل فالکن ۱۵ میلی لیتری اضافه شد. در هر میلی لیتر محلول به دست آمده یک میلی گرم BSA وجود داشت. از این محلول غلظت‌های صفر، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم در میلی لیتر BSA ساخته شد و میزان جذب آن‌ها را در طول موج ۵۹۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری کرده و بر اساس آن منحنی استاندارد به دست آمد. برای اندازه‌گیری میزان پروتئین کل نمونه‌های گیاهی، یک میلی لیتر محلول برادفورد ۵۰ میکرولیتر عصاره گیاهی اضافه شد و پس از ۲۰ دقیقه جذب نور در طول موج ۵۹۵ نانومتر برای هر نمونه اندازه‌گیری و با استفاده از منحنی استاندارد میزان کل پروتئین هر نمونه محاسبه شد (Bradford, 1976).

### تعیین فعالیت آنزیم کاتالاز

برای انجام این آزمایش از محلول واکنش به ترتیب شامل ۳۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات (pH=۷) ۵۰ میلی مولار، ۵ میکرولیتر

(2012; Itako et al., 2014) به اثبات رسیده است.

هدف از پژوهش حاضر، بررسی فعالیت سه آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه لوبیای آلوده به باکتری عامل سوختگی معمولی لوبیا و بررسی مقاومت ارقام مختلف این گیاه نسبت به باکتری عامل بیماری است.

## مواد و روش‌ها

### تهیه عامل بیماری‌گر و بذور لوبیا

در این پژوهش سویه باکتری *X. axonopodis* pv. *phaseoli* K1 از کلکسیون بخش گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی شیراز دریافت شد و بیماری‌زایی آن در شرایط گلخانه به اثبات رسید. همچنین بذر ارقام مختلف لوبیا شامل صدی، پاک، درسا و درخشان، از ایستگاه تحقیقات لوبیا شهرستان خمین تهیه شدند.

### ارزیابی مقاومت ارقام مختلف لوبیا نسبت به بیماری سوختگی معمولی لوبیا

بذور ارقام مختلف لوبیا قرمز (رقم درخشان)، سفید (ارقام پاک و درسا) و چیتی (رقم صدی) پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ۱/۵ درصد، در گلدان‌های دو کیلوگرمی حاوی خاک مزرعه، کود و شن (به نسبت ۲:۱:۱) که برای استریل شدن در دو مرحله به فاصله سه روز و هر بار به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو و در گلخانه کشت شدند. بعد از دو هفته رشد و ظهور برگ‌های حقیقی، سه برگچه دوم بوته‌ها به وسیله پنج سی‌سی از سوسپانسیون باکتری Xap با جمعیت  $10^8$  واحد تشکیل دهنده کلنی در میلی لیتر (CFU/ml) که با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شده بود، مایه‌زنی شدند. به منظور بیماری‌زایی بهتر باکتری، پیش از مایه‌زنی بیمارگر، در سطح برگ زخم‌های ریزی توسط برس ایجاد شد. برای تمامی ارقام مورد آزمایش شاهد سالم در نظر گرفته شد که با استفاده از آب مقطر سترون اسپری پاشی گردید. به منظور حفظ رطوبت بوته‌های مایه‌زنی شده به مدت ۷۲ ساعت زیرپوشش پلاستیکی قرار گرفتند. سپس ۱۲ روز بعد، هنگامی که علائم بیماری در گیاهان شاهد بیمار ظاهر شد، مقاومت ارقام مختلف لوبیا به بیماری بر اساس سیستم نمره‌دهی مرکز بین‌المللی کشاورزی مناطق گرمسیر (ICTA) محاسبه شد (Corrales & Schoonhoven, 1994).

به منظور بررسی شدت بیماری در آزمون بیماری‌زایی، ابتدا از هر گیاه هشت برگ به صورت تصادفی انتخاب و درصد علائم آن‌ها با استفاده از مقیاس CIAT ثبت شد و شدت بیماری با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Dhanya & Mary, 2006).

جدول ۱- نمره دهی مقاومت گیاه لوبیا در مقابل Xap با مقیاس CIAT (Schoonhoven & Pastor- Corrales, 1994).  
Table 1. Evaluation scales for bean resistance against Xap, based on CIAT scale (Schoonhoven & Pastor- Corrales, 1994).

Symptoms	Rating
Leaf with no visible symptoms	1
Around 2 percents of leaf surface is covered by small lesions. Sheats are generally without disease symptom.	3
Around 5 percents of leaf surface is covered by small lesions. The lesions are started to join together.	5
Around 10 percents of leaf surface is covered by middle and larg lesions. The lesions have generally yellow halo and bligh. The lesions on the sheats are larg and joined together on which bacterial caused secretion are visible.	7
More than 25 percents of leaf surface is covered by larg lesions. Leaves have necrotic symptom so may defoliate.	9

میکرولیتر عصاره آنزیمی بود که به ترتیب درون کووت ریخته و بلافاصله درون دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده شد. به منظور صفر نمودن دستگاه اسپکتروفتومتر از نمونه شاهد شامل کلیه موارد ذکر شده در بالا، به استثنای پراکسید هیدروژن استفاده شد. سنجش این آنزیم در محدوده نور UV در طول موج ۵۶۰ نانومتر به مدت یک دقیقه و در فواصل زمانی ۲۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. فعالیت ویژه آنزیم به صورت تغییرات جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین گیاه ( $\Delta\text{Abs min}^{-1} \text{ mg protein}$ ) گزارش شد (Djebali *et al.*, 2011).

اندازه‌گیری میزان کلروفیل گیاه لوبیا در برهمکنش با باکتری

#### Xap

بدین منظور ابتدا میزان ۰/۱ گرم از نمونه‌های برگ در استون ۸۰ درصد درون هاون چینی له نموده و سپس مخلوط حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد. سپس حجم آن با اضافه کردن استون به ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. در نهایت میزان جذب عصاره تهیه شده در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۷ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد (Arnon, 1974). به منظور محاسبه غلظت رنگیزه‌ها از فرمول‌های زیر استفاده شد:

$$\begin{aligned} \text{Chl.a} &= (12.25 \times A_{663}) - (2.79 \times A_{647}) \\ \text{Chl.b} &= (21.50 \times A_{647}) - (5.10 \times A_{663}) \\ \text{Chl.T} &= (18.71 \times A_{647}) + (7.15 \times A_{663}) \\ \text{Car} &= (1000 \times A_{470}) - (1.82 \times \text{Chl.a} - 85.02 \times \text{Chl.b}) \end{aligned}$$

در این فرمول Chl.a، Chl.b، Chl.T و Car به ترتیب میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید است. همچنین  $A_{663}$  و  $A_{470}$  عددهای جذب قرائت شده عصاره گیاه در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۷ و ۴۷۰ نانومتر در دستگاه

پراکسید هیدروژن ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ۳۰ درصد و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی استفاده شد و بلافاصله درون دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده شد. به منظور صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر از نمونه شاهد شامل کلیه موارد ذکر شده در بالا، به استثنای عصاره آنزیمی استفاده شد. سنجش این آنزیم با دستگاه اسپکتروفتومتر در محدوده نور UV در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه و در فواصل زمانی ۲۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. فعالیت ویژه آنزیم به صورت تغییرات جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین گیاه ( $\Delta\text{Abs min}^{-1} \text{ mg protein}$ ) گزارش شد (Aebi, 1984).

تعیین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

محلول واکنش شامل ۱۸۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی-مولار (pH=۷)، ۳۰۰ میکرولیتر EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، ۳۰۰ میکرولیتر آسکوربیک اسید ۰/۵ میلی‌مولار، ۳۰۰ میکرولیتر  $\text{H}_2\text{O}_2$  ۳۰ درصد، ۳۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود که به ترتیب درون کووت ریخته و بلافاصله درون دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده شد سنجش این آنزیم در محدوده نور UV با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه و در فواصل زمانی ۲۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. به منظور صفر نمودن دستگاه اسپکتروفتومتر از نمونه شاهد شامل کلیه موارد ذکر شده در بالا، به استثنای عصاره آنزیمی استفاده شد. فعالیت ویژه آنزیم آسکوربات پراکسیداز به صورت تغییرات جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین گیاه ( $\Delta\text{Abs min}^{-1} \text{ mg protein}$ ) گزارش شد (Ranieri *et al.*, 2003).

تعیین فعالیت آنزیم پراکسیداز

بدین منظور مخلوط واکنش شامل ۹۰۰ میکرولیتر بافر فسفات (pH=۷) ۵۰ میلی‌مولار، ۱۰ میکرولیتر گایاکول ۵۰۰ میلی-مولار، ۲۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ۳۰ درصد، ۲۵

اسپکتروفتومتر است.

## تجزیه آماری

آزمایشات (میزان آنزیم‌های گیاهی، پروتئین و رنگیزه‌های گیاهی) به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار انجام شد و در نرم‌افزار Microsoft Office Excel 2015 پردازش شد. تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه میانگین صفات به روش دانکن و با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 صورت گرفت.

## نتایج

### مقاومت ارقام لوبیا در برابر باکتری Xap

نتایج نشان داد تفاوت معنی داری ( $P < 0.01$ ) میان مقاومت ارقام مختلف لوبیا در مقابل بیماری سوختگی معمولی وجود دارد. در ۱۰ روز اول پس از مایه‌زنی رقم صدری و پاک به ترتیب با ۷۰/۸۳ و ۶۸/۰۶ درصد آلودگی (خسارت)، بیش‌ترین حساسیت را نسبت به عامل بیماری سوختگی معمولی لوبیا داشتند. همچنین رقم درخشان با میانگین ۵۱/۳۹ درصد کم‌ترین میزان بیماری را از خود نشان داد و از این نظر تفاوت معنی‌داری را با دیگر ارقام مورد بررسی در سطح یک درصد نشان داد. در ۱۰ روز دوم رقم پاک، صدری و درسا به ترتیب با شدت بیماری ۷۹/۸۶، ۷۹/۱۷ و ۷۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند. ولی با رقم درخشان با ۶۲/۵ درصد شدت علائم، تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد ایجاد نمودند (شکل ۱، ۲).

### فعالیت آنزیم کاتالاز در ارقام حساس و نیمه مقاوم لوبیا در برابر همکنش با باکتری Xap

تجزیه واریانس تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز تفاوت معنی داری را در سطح یک درصد میان تیمارهای مختلف نشان داد. فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو رقم درخشان و صدری ۲۴ ساعت پس از مایه‌زنی بیمارگر به طور معنی داری در سطح آماری یک درصد افزایش یافت و به حداکثر میزان خود در میان روزهای مورد بررسی رسید. سپس در زمان‌های ۴۸، ۷۲ ساعت و ۲ هفته بعد از آلودگی فعالیت این آنزیم کاهش یافت (شکل ۳).

### فعالیت آنزیم پراکسیداز در ارقام حساس و نیمه مقاوم لوبیا در برابر همکنش با باکتری Xap

نتایج تجزیه واریانس در رقم درخشان نشان داد که فعالیت این آنزیم ۲۴ ساعت پس از مایه‌زنی بیمارگر (Xap) به طور معنی‌داری در سطح آماری یک درصد افزایش یافت و به حداکثر میزان خود در طی آلودگی رسید. اگر چه ۴۸ ساعت پس از آلودگی فعالیت آنزیم به صورت معنی داری نسبت به زمان ۲۴ ساعت کاهش نشان داد. ولی ۴۸ ساعت پس از مایه‌زنی افزایش

فعالیت آنزیم در سطح پنج درصد آماری معنی‌دار بود. سپس در زمان‌های ۷۲ ساعت و ۲ هفته بعد از آلودگی فعالیت این آنزیم کاهش یافت، به نحوی که تفاوت معنی داری از لحاظ تغییرات فعالیت آنزیمی نشان نداد. نتایج تجزیه واریانس فعالیت آنزیم پراکسیداز در رقم صدری در برهمکنش با باکتری Xap تا حدودی شبیه رقم درخشان بود ولی در کل میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در رقم درخشان بالاتر از رقم صدری بود (شکل ۴).

### فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ارقام حساس و نیمه مقاوم لوبیا در برابر همکنش با باکتری Xap

نتایج تجزیه واریانس فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در رقم درخشان و صدری نشان داد فعالیت این آنزیم ۴۸ ساعت بعد از مایه‌زنی بیمارگر (Xap) به حداکثر میزان خود در طی آلودگی در این دو رقم رسید. که این تغییرات به طور معنی‌داری در سطح آماری پنج درصد افزایش نشان داد. سپس در زمان‌های ۷۲ ساعت و ۲ هفته بعد از مایه‌زنی بیمارگر به گیاه فعالیت آنزیم کاهش نشان داد. به نحوی که در این دو زمان، تفاوت معنی‌داری از لحاظ تغییرات فعالیت آنزیمی نشان نداد (شکل ۵).

**میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه لوبیا سالم و آلوده به باکتری Xap**  
بعد از ۲۰ روز که بیمارگر حداکثر خسارت را به گیاه وارد کرد، فعالیت فتوسنتزی گیاه سنجیده شد. نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از تأثیر باکتری Xap بر میزان کلروفیل و کارتنوئید گیاه لوبیا نشان داد که میان داده‌های حاصل از میزان کلروفیل a در لوبیا رقم درخشان و صدری تفاوت معنی‌داری در سطح آماری پنج درصد و کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید تفاوت معنی‌داری در سطح آماری یک درصد وجود دارد. مقایسه میانگین تأثیر بیماری سوختگی معمولی لوبیا روی فتوسنتز گیاه لوبیا نشان داد که به‌طور کلی میزان فعالیت کلروفیل a، b و کلروفیل کل و همچنین کارتنوئیدهای گیاه لوبیا در رقم درخشان بیشتر از رقم صدری است. در گیاه آلوده شده به باکتری Xap از نظر میزان هر دو کلروفیل کاهش معنی‌داری (در سطح یک درصد) نسبت به تیمار گیاه سالم وجود داشت، به‌نحوی که میزان کلی فتوسنتز در لوبیای غیرآلوده صدری و درخشان ۲/۹۳ و ۳/۲۳ میکروگرم بر گرم بافت برگ بود. در حالی که در لوبیاهای آلوده این ارقام، میزان کلی کلروفیل گیاه به ترتیب ۱/۹۶ و ۲/۱۴ میکروگرم بر گرم بافت برگ بود (جدول ۲).

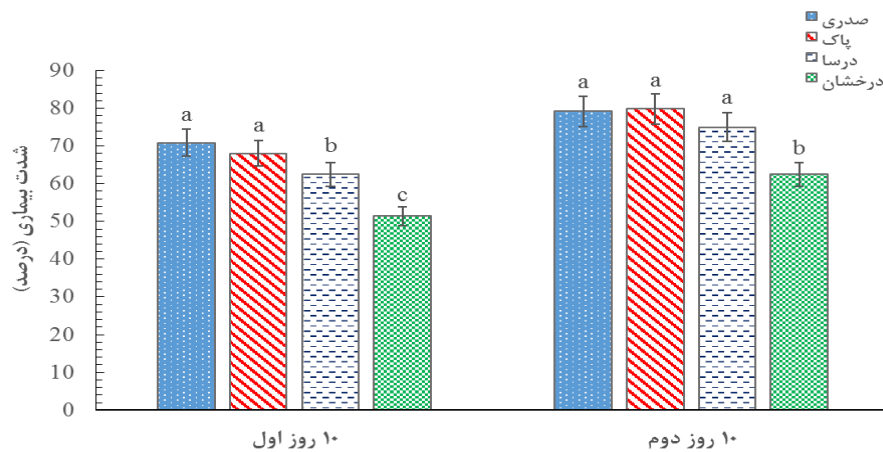
## بحث

سوختگی معمولی لوبیا با عامل *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* یکی از مهم‌ترین بیماری‌های لوبیا است که خسارت این بیمارگر در صورت بروز آلودگی شدید تا حدود ۸۰ درصد گزارش



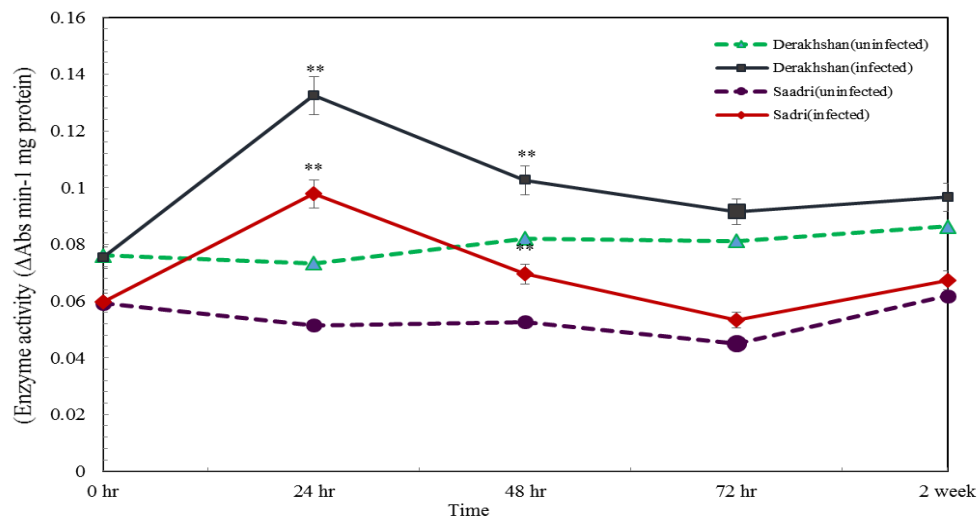
شکل ۱- علائم بیماری سوختگی معمولی لوبیا رقم صدری.

**Fig 1.** Symptoms of blight in Sadri variety of common Bean.



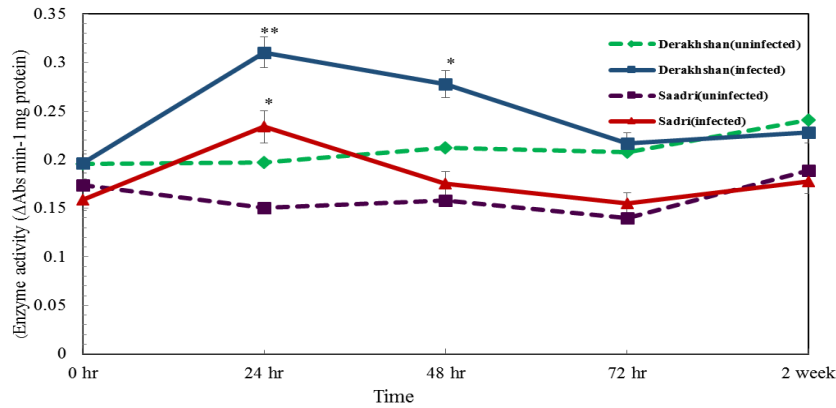
شکل ۲- شدت بیماری باکتری Xap روی ارقام مختلف لوبیا، داده‌ها میانگین چهار تکرار  $\pm$  خطای معیار (SE) هستند. حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار میان تیمارها بر اساس مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن ( $P < 0/01$ ) است.

**Fig 2.** Blight severity in different varieties of common bean. The data represent the average of four replicates  $\pm$  standard error (SE). Different letters indicate significant differences among treatments, according to Duncan's test ( $P < 0.01$ ).



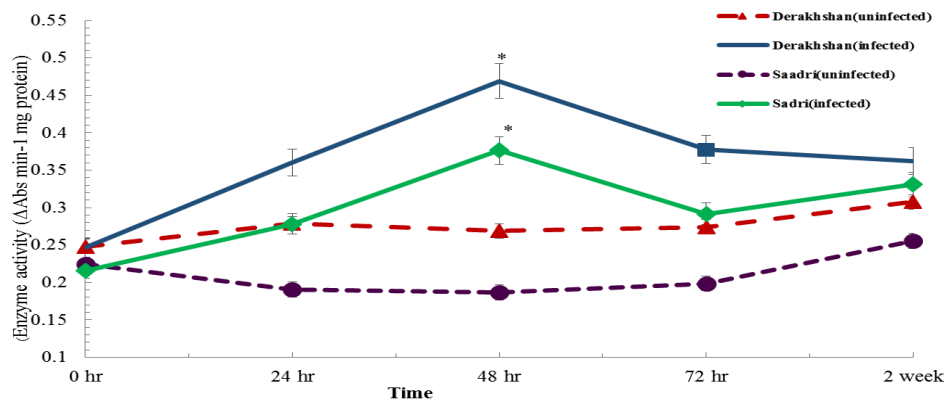
شکل ۳- تغییرات میزان فعالیت آنزیم کاتالاز ( $\Delta$ Abs  $\text{min}^{-1}$  mg protein) موجود در ارقام صدری و درخشان در زمان‌های ۰، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و دو هفته پس از مایه‌زنی باکتری عامل بیماری. هر کدام از نقاط روی نمودار میانگین ۴ تکرار  $\pm$  خطای معیار (SE) است. \* و \*\* به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

**Fig 3.** Changes in Catalase enzyme activity of ( $\Delta$ Abs  $\text{min}^{-1}$  mg protein) in Sadri and Derakhshan varieties at 0, 24, 48 and 72 hours, and 2 weeks after inoculation of the pathogen bacteria. Each point represents the mean of four replications  $\pm$  standard error (SE). \*\* Significant at  $P < 0.01$ , \* Significant at  $P < 0.05$ .



شکل ۴- تغییرات میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ( $\Delta\text{Abs min}^{-1} \text{ mg protein}$ ) موجود در ارقام صدری و درخشان در زمان‌های ۰، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و دو هفته پس از مایه‌زنی باکتری عامل بیماری. هر کدام از نقاط روی نمودار میانگین ۴ تکرار  $\pm$  خطای معیار (SE) است. \* و \*\* به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

**Fig 4.** Changes in Proxidase enzyme activity of ( $\Delta\text{Abs min}^{-1} \text{ mg protein}$ ) in Sadri and Derakhshan varieties at 0, 24, 48, 72, and 2 weeks after inoculation of the pathogen bacteria. Each point represents the mean of four replications  $\pm$  standard error (SE). \*\* Significant at  $P < 0.01$ , \* Significant at  $P < 0.05$ .



شکل ۵- تغییرات میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ( $\Delta\text{Abs min}^{-1} \text{ mg protein}$ ) موجود در ارقام صدری و درخشان در زمان‌های ۰، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و دو هفته پس از مایه‌زنی باکتری عامل بیماری. هر کدام از نقاط روی نمودار میانگین ۴ تکرار  $\pm$  خطای معیار (SE) است. \* و \*\* به ترتیب معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

**Fig 5.** Changes in Ascorbate Proxidase enzyme activity of ( $\Delta\text{Abs min}^{-1} \text{ mg protein}$ ) in Sadri and Derakhshan varieties at 0, 24, 48, 72, and 2 weeks after inoculation of the the pathogen bacteria. Each point represents the mean of four replications  $\pm$  standard error (SE). \*\* Significant at  $P < 0.01$ , \* Significant at  $P < 0.05$ .

## جدول ۲- مقایسه میانگین فعالیت فتوسنتزی گیاه لوبیا سالم و آلوده به باکتری Xap

**Table 2.** Comparison means of Xap effect on plant photosynthetic activity of bean.

Treatment	Carotenoid	Production rate ( $\mu\text{g/g}$ )		
		Chlorophyll		Total
		b	A	
Sadri (uninfected)	$0.62 \pm 0.02^a$	$1.25 \pm 0.06^{ab}$	$1.68 \pm 0.08^a$	$2.93 \pm 0.03^b$
Sadri (Infected)	$0.47 \pm 0.03^b$	$0.69 \pm 0.05^b$	$1.27 \pm 0.05^b$	$1.96 \pm 0.04^c$
Derakhshan (uninfected)	$0.67 \pm 0.02^a$	$1.40 \pm 0.08^a$	$1.83 \pm 0.14^a$	$3.23 \pm 0.09^a$
Derakhshan (Infected)	$0.52 \pm 0.03^b$	$0.77 \pm 0.08^b$	$1.38 \pm 0.05^b$	$2.14 \pm 0.07^c$

داده‌ها میانگین چهار تکرار  $\pm$  خطای معیار (SE) هستند. حروف متفاوت نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار میان تیمارها بر اساس مقایسه میانگین‌ها در آزمون دانکن ( $P < 0.01$ ) است. The data represents the average of four replicates  $\pm$  standard error (SE), respectively. Different letters indicate significant differences among treatments according to Duncan's test with ( $P < 0.01$ ).

آنزیم کاتالاز ۲۴ ساعت پس از مایه‌زنی بیمارگر به میزان زیادی افزایش یافت. افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز جهت کاهش فعالیت پراکسید هیدروژن در گیاه است. پراکسید هیدروژن ماده‌ای سمی برای گیاه است؛ تجمع این ماده برای سلول‌ها و بافت‌ها بسیار آسیب‌رسان است و باید بلافاصله تجزیه شود که افزایش میزان کاتالاز در گیاه لوبیای تحت تنش باعث کاهش این ماده و سرکوب فعالیت سمی آن می‌شود (Mallick & Mohn, 2001). در پژوهشی مشابه، میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز ۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی باکتری Xap به گیاه لوبیا بیش‌ترین میزان را داشته است (Farahani & Taghavi, 2016)، که با نتایج این پژوهش از نظر زمان بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم مغایرت دارد ولی از نظر افزایش کلی آنزیم مشابه این آزمایش است. دیگر آنزیم گیاهی مرتبط با فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه لوبیا در مقابله با تنش باکتری Xap آنزیم پراکسیداز است. فعالیت این آنزیم همانند آنزیم کاتالاز ۲۴ ساعت پس از مایه‌زنی به حداکثر میزان خود رسید. با فعال شدن این آنزیم مولکول هیدروژن پراکسید در سلول شکسته می‌شود و از تولید ROSها جلوگیری می‌کند. بنابراین با بالا رفتن سطوح فعالیت این آنزیم، گیاه کم‌تر مورد تهاجم ROS قرار می‌گیرد (Allen, 2008; Blokina *et al.*, 2003).

آنزیم آسکوربات پراکسیداز همانند دو آنزیم قبل نقش سرکوب‌کنندگی فعالیت پراکسید هیدروژن را برعهده دارد. در واقع این آنزیم از آسکوربات به‌عنوان عامل احیاکننده استفاده کرده و آب‌اکسیژنه را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند و نقش مهمی در سم‌زدایی پراکسید هیدروژن ایفا می‌کند (Asada, 2003; Allen, 2008; Blokina *et al.*, 1992). در گریپ فروت آلوده به شانکر باکتریایی مرکبات با عامل *X. citri* subsp. *citri* فعالیت هیدروژن پراکسیداز با افزایش فعالیت کاتالاز، آسکوربات و پراکسیداز گیاه همراه است و با افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در مجموع غلظت هیدروژن پراکسید در گیاه کم می‌شود (Kumar *et al.*, 2012). در این پژوهش میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۴۸ ساعت پس از مایه‌زنی بیمارگر به بیش‌ترین میزان خود رسید و برهمکنش بیمارگر با لوبیای رقم صدری و درخشان به ترتیب سبب افزایش ۱۰۱/۳۸ و ۴۲/۷۱ درصدی این آنزیم نسبت به شاهد سالم شد. در پژوهشی مشابه در لوبیا آلوده به باکتری Xap فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از مایه‌زنی به ترتیب به میزان ۱/۱، ۱/۷، ۲/۴ و ۱/۳ برابر نسبت به گیاه سالم (بدون حضور بیمارگر) افزایش یافته است (Farahani & Taghavi, 2016) که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد.

شده است (Akhavan *et al.*, 2013). در پژوهش حاضر علائم بیماری به صورت لکه‌های آب‌سوخته ظاهر شد. به مرور زمان این لکه‌های آب سوخته حالت کلروز به خود گرفت و بعد از حدود ۲ هفته هاله‌ای زرد رنگ اطراف لکه‌های کلروز شده پدیدار شد که با پژوهش‌های انجام شده توسط سایر محققان مطابقت دارد (Akhavan *et al.*, 2013; Lak *et al.*, 2002).

باکتری عامل سوختگی معمولی لوبیا در طی ۱۰ تا ۲۰ روز بعد از مایه‌زنی حدود ۵۹ تا ۸۰ درصد علائم را روی ارقام مختلف لوبیا نشان داد. این درصد از علائم نشان از میزان خسارت بالای این بیمارگر روی ارقام مختلف گیاه لوبیا است. تمام رقم‌های لوبیای مورد بررسی (صدری، پاک، درخشان و درسا) علائم بیماری را نشان دادند. بنابراین هیچ‌کدام از ارقام مورد استفاده نسبت به عامل بیماری مقاومت کامل نداشتند. گیلبرستون و مکسول نیز بیان داشتند که ایمنی نسبت به این بیماری در ارقام و لاین‌های لوبیا وجود ندارد (Gilbertson & Maxwell, 1992). همچنین در پژوهش‌های دیگری نیز حساسیت تمام ارقام لوبیای مورد مطالعه نسبت به این بیماری گزارش شده‌اند (Saettler, 1989). تاکنون تعداد کمی ارقام و لاین‌های مقاوم به عامل بیماری گزارش شده است (Dursun *et al.*, 2002; Teran *et al.*, 2009; Todorovic *et al.*, 2008). در بین ارقام مورد بررسی، رقم لوبیا درخشان با ۵۸/۳۳ درصد و رقم صدری با ۸۰/۵۶ درصد علائم به ترتیب کم‌ترین و بیش‌ترین شدت علائم را نشان دادند انتخاب و در ادامه آزمایشات مورد استفاده قرار گرفتند.

در پژوهش حاضر به‌طور کلی میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در لوبیا رقم درخشان که در مقایسه با رقم صدری حساسیت کم‌تری نسبت به باکتری Xap داشت، بیشتر بود. فعالیت این آنزیم‌ها بعد از مایه‌زنی باکتری Xap به گیاه لوبیا ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت. مشخص شده است که فعالیت این آنزیم‌ها برای تعادل سطح بین رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن در گیاه است (Bowler, 1991). در واقع پراکسید هیدروژن ماده‌ای است که در گیاهان تحت تنش‌های مختلف تولید می‌شود. این ماده توانایی نامحدودی در اکسیداسیون اجزای سلولی مختلف دارد و می‌تواند منجر به تخریب اکسیداتیو سلول شود (Allen, 2008). فعالیت این آنزیم‌ها بیشتر در راستای کاهش پراکسید هیدروژن در گیاه و جلوگیری از اثرات زیانبار آن برای سلول است. در بسیاری از پژوهش‌ها نیز مشخص شده است که گیاهان برای جلوگیری از اثرات زیان‌بار ROS و برای حفظ تعادل سطح ROS این آنزیم‌ها را فعال می‌کنند (Bolwell *et al.*, 2002). فعالیت

(Cavalcanti *et al.*, 2007; Itako *et al.*, 2012).

### نتیجه‌گیری

بیماری سوختگی معمولی لوبیا با عامل *X. axonopodis* pv. *phaseoli* یکی از بیماری‌های مهم لوبیا است که خسارت شدیدی را به چهار رقم لوبیا صدری، پاک، درسا و درخشان وارد می‌سازد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه لوبیا در تنش با باکتری مزبور به میزان معنی‌داری افزایش می‌یابد. همچنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در رقمی که مقاوم‌تر است، بیشتر از رقم حساس است. فعالیت آنزیم‌های مرتبط با تنش اکسیداتیو در گیاه لوبیا در مقابله با باکتری Xap در جهت شروع واکنش دفاعی گیاه در برابر تنش ناشی از این بیمارگر و کاهش تولید پراکسید هیدروژن است. بدین منظور گیاه لوبیا فعالیت سه آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز را در خود افزایش می‌دهد که مهم‌ترین وظیفه این آنزیم‌ها کاهش میزان پراکسید هیدروژن است. در واقع پراکسید هیدروژن ماده‌ای بسیار سمی برای گیاه است که اگر تولید آن در گیاه سرکوب نشود، سبب خسارت شدید به گیاه و در نهایت از بین رفتن گیاه می‌شود. همان‌طور که بیان شد فعالیت این آنزیم‌ها در رقم مقاوم بیشتر است. در واقع گیاه مقاوم لوبیا با فعالیت آنتی‌اکسیدانی خسارت تنش بیماری را کاهش می‌دهد.

### سپاسگزاری

از همکاری آزمایشگاه تحقیقات گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان تشکر می‌گردد.

### REFERENCES

- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. – Meth. Enzymol. 105: 121-126.
- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology (5<sup>th</sup> ed.) 5<sup>th</sup>. Elsevier Acad. Press. – Burlington. Mass, EU. 36: 31-45.
- Akhavan, A., Bahar, M., Askarian, H., Lak, M.R., Nazemi, A. and Zamani, Z. 2013. Bean common bacterial blight: pathogen epiphytic life and effect of irrigation practices. – Springer Plus 2: 41-49.
- Allen, R.D. 2008. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. – Plant Physiol. 107: 1049-1054.
- Angeles-Ramos, R., Vidaver, A.K. and Flynn, P. 1991. Characterization of epiphytic *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* and pectolytic *Xanthomonads* recovered from symptomless weeds in the Dominican Republic. – Phytopath. 81: 677-681.
- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. – Plant Physiol. 24: 1.

درواقع آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز با تاثیر بر پراکسید هیدروژن که برای سلول‌های گیاهی و به‌ویژه کلروپلاست‌ها بسیار سمی است، اثرات سمی آن را کاهش می‌دهند (Takahashi, 1987; Blokina *et al.*, 2003; Allen, 2008). آنزیم کاتالاز از پراکسید هیدروژن به‌عنوان سوپسترا استفاده می‌کند و با تجزیه سریع این ماده اثرهای مخرب این ماده را مهار می‌کند (Blokina *et al.*, 2003; Pan *et al.*, 2006). این آنزیم با تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و هیدروژن از فعالیت آن می‌کاهد (Mallick & Mohn, 2001). آنزیم آسکوربات پراکسیداز از آسکوربات به‌عنوان عامل احیاکننده استفاده می‌کند و آب‌اکسیژنه را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند و از این طریق نقش مهمی در سم‌زدایی پراکسید هیدروژن به‌عده دارد (Asada, 1992; Allen, 2008; Blokina *et al.*, 2003). بنابراین افزایش فعالیت این آنزیم‌ها برای جلوگیری از تشکیل پراکسید هیدروژن در سلول‌های گیاهی می‌تواند توجیه مناسبی برای بیشتر بودن فعالیت آنزیمی در گیاه لوبیا رقم درخشان نسبت به رقم صدری (رقم حساس‌تر) باشد. زیرا رقم لوبیا درخشان خسارت کم‌تری در مقابل این بیمارگر دیده است. بنابراین می‌توان بیان داشت مقاومت آنزیمی در این گیاه بیشتر بوده که تا حدودی از خسارت این بیماری نسبت به رقم صدری جلوگیری کرده است. در همین خصوص در پژوهشی مشابه مشخص شد میزان فعالیت آنزیمی گیاه و در کل میزان فعالیت دو آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاهان مقاوم بسیار بیشتر از گیاهان حساس است (Chandrashekar & Umesha, 2012). در این پژوهش فعالیت این آنزیم‌ها بعد از مایه‌زنی بیمارگر به گیاه لوبیا ابتدا افزایش و سپس به‌مرور زمان کاهش یافت. فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز ۲۴ ساعت و آنزیم آسکوربات ۴۸ ساعت پس از مایه‌زنی باکتری به گیاه به بیش‌ترین میزان خود رسید. می‌توان گفت افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه لوبیا در تنش بیماری سوختگی معمولی باکتریایی مرتبط با مقاومت گیاه لوبیا است و این موضوع با نتایج پژوهش‌های دیگر محققان مطابقت دارد. به‌طور مثال در پژوهشی که به منظور بررسی مقاومت آنتی‌اکسیدانی گیاه گوجه‌فرنگی در برابر باکتری *X. vesicatoria* انجام شد، مشخص گردید، مقاومت گیاه با افزایش فعالیت آنزیمی گیاه همانند پراکسیداز، پلی فنول اکسیداز و بتا ۱-۳ گلوکاناز مرتبط است (Cavalcanti *et al.*, 2006). در واقع افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه لوبیا در تنش بیماری سوختگی معمولی باکتریایی مرتبط با مقاومت گیاه لوبیا است و این موضوع با نتایج پژوهش‌های دیگر محققان مطابقت دارد.

- Asada, K.** 1992. Ascorbate peroxidase—a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. – *Physiol. Plantarum*. 85: 235-241.
- Blokhina, O., Virolainen, E. and Fagerstedt, K. V.** 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. – *Ann. Bot.* 91: 179-194.
- Bolwell, G.P. and Daudi, A.** 2009. Reactive oxygen species in plant–pathogen interactions. In reactive oxygen species in plant signalling. – Springer, Berlin, Heidelberg. pp: 113-133.
- Bolwell, G.P., Bindschedler, L.V., Blee, K.A., Butt, V.S., Davies, D.R., Gardner, S.L. and Minibayeva, F.** 2002. The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a three-component system. – *J. Exp. Bot.* 53: 1367-1376.
- Bradford, M.M.** 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. – *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- Cavalcanti, F.R., Resende, M.L. V., Lima, J.P.M.S., Silveira, J.A.G. and Oliveira, J.T.A.** 2006. Activities of antioxidant enzymes and photosynthetic responses in tomato pre-treated by plant activators and inoculated by *Xanthomonas vesicatoria*. – *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 68: 198-208.
- Chandrashekar, S. and Umesha, S.** 2012. Induction of antioxidant enzymes associated with bacterial spot pathogenesis in tomato. – *Int. J. Food Agric. Vet. Sci.* 2: 22-34.
- Chatterton, S., Balasubramanian, P.M., Erickson, R.S., Hou, A., McLaren, D.L., Henriquez, M.A. and Conner, R.L.** 2016. Identification of bacterial pathogens and races of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* from dry bean fields in Western Canada. – *Can. J. Plant Pathol.* 38: 41-54.
- Chithrashree, C. and Srinivas, C.** 2012. Role of antioxidant scavenging enzymes and extracellular polysaccharide in pathogenicity of rice bacterial blight pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. – *African J. Biotech.* 11: 13186-13193.
- Corrales, M.A.P. and Van Schoonhoven, A.** 1987. Standard system for the evaluation of bean germplasm. – *CIAT* 23: 95-106.
- Darsonval, A., Darrasse, A., Meyer, D., Demarty, M., Durand, K., Bureau, C. and Jacques, M.A.** 2008. The type III secretion system of *Xanthomonas fuscans* subsp. *fuscans* is involved in the phyllosphere colonization process and in transmission to seeds of susceptible beans. – *Appl. Environ. Microbiol.* 74: 2669-2678.
- Dhanya, M.K. and Mary, C.A.** 2007. Management of bacterial blight of Anthurium (*Anthurium andreanum* Linden.) using ecofriendly materials. – *J. Trop. Agric.* 44: 74-75.
- Djébali, N., Mhadhbi, H., Lafitte, C., Dumas, B., Esquerré-Tugayé, M.T., Aouani, M.E. and Jacquet, C.** 2011. Hydrogen peroxide scavenging mechanisms are components of *Medicago truncatula* partial resistance to *Aphanomyces euteiches*. – *Eur. J. Plant Pathol.* 131: 559.
- Dursun, A., Figen Donmez, M. and Şahin, F.** 2002. Identification of resistance to common bacterial blight disease on bean genotypes grown in Turkey. – *Eur. J. Plant Pathol.* 108: 811-813.
- Ebadzadeh, H.R., Ahmadi, K., Mohamadnia, S.H., Abbastaghani, R., Abasi, M. and Yari, S.H.** 2017. Agriculture economic aspects Iran statistics. Agriculture Iran statistics. 403p.
- Farahani, A.S. and Taghavi, M.** 2016. Changes of antioxidant enzymes of mung bean [*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek] in response to host and non-host bacterial pathogens. – *J. Plant Pro. Res.* 56: 95-99.
- Ferreira, C.F., Pereira, M.G., Dos Santos, A.D.S., Rodrigues, R., Bressan-Smith, R. E., PioViana, A. and Daher, R.F.** 2003. Resistance to common bacterial blight in *Phaseolus vulgaris* L. recombinant inbred lines under natural infection of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. – *Euphytica* 134: 43-46.
- Gilbertson, R.L. and Maxwell, D.P.** 1992. Common bacterial blight of bean. In Plant diseases of international importance. Vol II: 18-39. Edited by: Chaube, H.S., Kumar, J., Mukhopadhyay, A.N. and Singh, U.S. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
- Halliwell, B.** 2006. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. – *Plant Physiol.* 141: 312-322.
- Itako, A.T., Tolentino Júnior, J.B., Júnior, S., Soman, J.M. and Maringoni, A.C.** 2015. Chemical products induce resistance to *Xanthomonas perforans* in tomato. – *Braz. J. Microbiol.* 46: 701-706.
- Karavina, C., Mandumbu, R., Parwada, C. and Zivenge, E.** 2011. Epiphytic survival of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (EF Sm). – *J. Anim. Plant Sci.* 9: 1161-1168.
- Kumar, N., Ebel, R.C., and Roberts, P.D.** 2011. Superoxide dismutase activity in kumquat leaves infected with *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. – *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 86: 62-68.
- Lak, M.R., Shamsbakhsh, M. and Bahar, M.** 2002. Identification of the bacterial agent of bean leaf and pod blight in Markazi province. – *JWSS-Isfahan University of Technology.* 6: 231-243.
- Mallick, N., and Mohn, F.H.** 2000. Reactive oxygen species: response of algal cells. – *Plant Physiol.* 157: 183-193.
- Mirzaei Najafgholi, H., Tarighi, S., Golmohamadi, M. and Taheri, P.** 2017. Antioxidant response of Mexican lime to *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. – *Agric. Biotechnol.* 8: 9-17.
- Pan, Y., Wu, L.J. and Yu, Z.L.** 2006. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). – *Plant Growth Regul.* 49: 157-165.
- Ranieri, A., Castagna, A., Pacini, J., Baldan, B., Sodi, A.M. and Soldatini, G.F.** 2003. Early production and scavenging of hydrogen peroxide in the apoplast of

sunflower plants exposed to ozone. – J. Exp. Bot. 54: 2529-2540.

**Richards, G. and Roberts, P.** 2016. Centre for Agriculture and Biosciences International (CABI). Review of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (bean blight). <http://www.cabi.org/isc/datasheet/56962>.

**Saettler, A.W.** 1989. Assessment of yield loss caused by common blight of beans in Uganda. – Annu. Rep. Bean Improv. Coop. 35:113-114.

**Terán, H., Lema, M., Webster, D. and Singh, S.P.** 2009. 75 years of breeding pinto bean for resistance to diseases

in the United States. – Euphytica 167: 341-351.

**Todorović, B., Milijašević, S., Rekanović, E., Potočnik, I. and Stepanović, M.** 2008. Susceptibility of bean genotypes to *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* in greenhouse conditions. – Pesticidi i Fitomedicina 23: 167-173.

**Venacker, H., Carver, T.L.W. and Foyer, C.H.** 1998. Pathogen induced changes in the antioxidant status of the apoplast in barley leaves. – Plant Physiol. 117: 1103-1114.

\*\*\*\*\*

#### How to cite this article:

**Derikvand, F., Bazgir, E., Darvishnia, M. and Mirzaei Najafgholi, H.** 2020. A study on the changes of some enzymes related to antioxidant defense system in common bean against *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. – Nova Biol. Reperta 6: 424-434. (In Persian)

دریکوند، ف.، عیدی بازگیر، مصطفی درویش نیا، حسین میرزایی نجفقلی. ۱۳۹۸. بررسی تغییرات برخی آنزیم‌های مرتبط با سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه لوبیا در برابر بیماری‌گر *Xanthomonas axonopodis* pv. *Phaseoli*. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۶: ۴۳۴-۴۲۴.