پژوهش‌های کاربردی در گیاه‌پزشکی ۱۲ (۱): ۵۶-۴۳ (۱۴۰۲)- مقاله پژوهشی
Journal of Applied Research in Plant Protection 12 (1): 43-56 (2023)-*Research Article*

DOI: https://dx.doi.org/10.22034/arpp.2022.15664

مقایسه تأثیر فیتوهورمون GR24 و دو گونه قارچی به تنهایی و در ترکیب با هم در افزایش مقاومت دو رقم گوجه‌فرنگی نسبت به بیماری پژمردگی فوزاریومی

سیدرضا میررحیمی[۱]، مهدی پیرنیا[۱]، سید کاظم صباغ[۲]✉، سید ابراهیم سیفتی[۳]، مجتبی کیخا صابر[۱]، عبدالحسین طاهری[۴]

[۱]گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران. [۲] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه یزد، یزد، ایران. ✉sksabbagh@yazd.ac.ir *[۳] گروه مدیریت منابع خشک و بیابانی، دانشکده منابع طبیعی و کویر شناسی، دانشگاه یزد، یزد ،ایران. [۴]گروه گیاهپزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.*

دریافت: ۱۴۰۱/۱/۲۳ بازنگری: ۱۴۰۱/۳/۲۵ پذیرش: ۱۴۰۱/۳/۲۹

چکیده

در این تحقیق تأثیر فیتوهورمون استریگولاکتون و دو گونه قارچ در القاء مقاومت دو رقم گوجه‌فرنگی نسبت به بیماری پژمردگی فوزاریومی در شرایط گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمایش از دو رقم گوجه‌فرنگی شامل کاپتین و ۴۱۲۹ و تیمارهای قارچ *Trichoderma reesei*، *Rizophagus irregularis* و فیتوهورمون GR24 ($۱۰^{-۶}$ میکرومولار) استفاده شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و در سه بازه زمانی بعد از مایه‌زنی عامل بیماری (صفر، ۷، ۱۵ و ۳۵ روز) اجرا شد. تأثیر تیمارهای مورد بررسی روی تغییرات چند آنزیم آنتی‌اکسیدانی، فنل، پروتئین کل و همچنین شدت بیماریزایی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست آمده از چهار بازه زمانی نشان داد که بیشترین مقدار هر سه آنزیم با مقادیر متفاوت برای دو رقم در بازه زمانی ۳۵ روز بعد از مایه‌زنی اتفاق می‌افتد. در مقایسه تیمارهای اعمال شده در این بازه زمانی، در بین تیمارهای ترکیبی و انفرادی به ترتیب کاربرد همزمان سه عامل مورد بررسی در مقایسه با سایر تیمارها، اثر قابل ملاحظه‌ای را در افزایش پارامترهای اندازه‌گیری شده نشان دادند. با توجه به نتایج این تحقیق، چنین پیشنهاد می‌شود که کاربرد هر سه عامل به صورت ترکیبی می‌تواند علاوه بر ایجاد مقاومت به بیماری، به عنوان عامل محدودکننده رشد قارچ بیمارگر در داخل گیاه در نظر گرفته شود.

کلمات کلیدی: تریکودرما، شدت بیماریزایی، کنترل زیستی، مقاومت اکتسابی، میکوریز

Comparative effect of gr24 phytohormone and two fungal species alone or in combination in increasing resistance of two tomato cultivars against fusarium wilt disease

Seyed Reza Mirrahimi[1], Mehdi Pirnia[1], Seyed Kazem Sabbagh[2]✉, Seyed Ebrahim Seifati[3], Mojtaba Keikha Saber[1], Abdolhossein Taheri[4]

[1]Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran. [2]Department of Biology, Faculty of Science, Yazd University, Yazd. Iran. ✉sksabbagh@yazd.ac.ir *[3]Department of Air Land and desert Management, Faculty of Natural Sciences and Desert Studies, Yazd University, Yazd. Iran. [4]Department of Plant Protection, Faculty of Plant Products, University of Agricultural Science and Natural Resources of Gorgan, Gorgan, Iran.*

Received: 12 April 2022 Revised: 15 June 2022 Accepted: 29 June 2022

Abstract

In this study, the effect of two fungal species and also a strigolacton phytohormone was evaluated on inducing resistance in two tomato cultivars infected with fusarium wilt disease. In this greenhouse experiment, two cultivars of tomato namely, Captain and 4129 and *Trichoderma reesei*, *Rhizophagus irregularis* and GR24 phytohormone (10^{6}µM) were used. For this purpose, a factorial experiment was used in a completely randomized design with three replications in different time periods after inoculation of the pathogen (0, 7, 15, 35 days). The effect of biocontrol treatments on changes of some antioxidant enzymes, phenol, total protein and disease severity was assayed. Data analysis showed that the highest activity of all three enzymes with different values for both cultivars occurred during 35 days after inoculation. Among combined and single treatments, application of a combination of three biocontrol factors (*T. reesei*, *R. irregularis* and GR24 phytohormone), respectively showed significant effect on increase of measured parameters compared with other treatments. Based on the results of this study it is suggested that application of all three agents in liquid form can be considered as a limiting factor for the growth of the pathogen on the seed surface besides inducing resistance against disease.

Keywords: *Trichoderma*, Disease severity, Biological control, Acquired resistance, Mycorrhiza

How to cite:
Mirrahimi SR, Pirnia M, Sabbagh SK, Seifati SE, Saber MK, Taheri A, 2023. Comparative Effect of GR24 Phytohormone and Two Fungal Species Alone or in Combination in Increasing Resistance of Two Tomato Cultivars Against Fusarium wilt disease. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 12 (1): 43–56.

مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Esculentum Lycopersicon* Mill) گیاهی یکساله از تیره بادنجانیان (*Solanaceae*) است که در حال حاضر به عنوان دومین سبزی رایج در سرتاسر دنیا کشت می‌شود و یک منبع غنی از ویتامین و مواد معدنی مطرح در دنیا به حساب می‌آید. آفات و بیماری‌های گیاهی به ویژه در شرایط گلخانه، یکی از مهمترین عوامل محدودکننده رشد و تولید این محصول در ایران و دنیا می‌باشند. در این میان، بیماری پژمردگی فوزاریومی ناشی از قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* (*Fol*) با تهاجم به آوندهای چوبی گیاه، تخریب سیستم آوندی، مسدودکردن آنها و ایجاد پژمردگی و برگریزی، می‌تواند خسارت جبران‌ناپذیری را به تولید محصول وارد نماید. علائم بیماری شامل پژمردگی، کاهش رشد، زردی برگ‌های پایینی، قهوه‌ای شدن آوندها و در نهایت خشک شدن بوته می‌باشد (Singh *et al*. 2017).

عواملی نظیر رطوبت بالای خاک و دامنه دمایی ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد که مناسب برای رشد قارچ بیمارگر می‌باشند و کمبود عناصر غذایی مانند نیتروژن، فسفر و کلسیم، می‌توانند باعث گسترش شدت بیماری گردند (Srinivas *et al*. 2019; Sharma 2011). رعایت شرایط بهداشتی در کاشت و داشت، مانند ضدعفونی بذرها و گاهاً خاک در سطوح کم می‌توانند میزان بیماری را کاهش دهند. از نظر یک کشاورز وجود ایمنی در گیاه فائق امدن بر عوامل بیماری زا و کاهنده محصول می باشد که این مهم با افزایش مقاومت گیاهان در برابر عوامل بیماریزا امکانپذیر می باشد (Noboro & Tsuda 2019).

از طرفی استفاده از عوامل کنترل‌کننده بیولوژیک در مبارزه با بیماری‌های گیاهی نظر بسیاری از محققان، تولیدکنندگان محصولات اُرگانیک و طرفداران محیط زیست را معطوف خود نموده است. همچنین استفاده از جامعه طبیعی زیستی ریزوسفر(Rhizosphere) خاک مانند گونه‌های مختلف قارچی، باکتریایی، ظرفیت مناسبی را برای رسیدن به سطحی بالا و کارامد از این روش کنترل بیماری‌ها فراهم نموده است (Gouda *et al*. 2018).

گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما با توانایی بالا در کلونیزه کردن ریشه و دارا بودن خاصیت آنتاگونیستی، جلوگیری از رشد سریع عوامل بیمارگر و همچنین افزایش مقاومت گیاه از طریق کمک به جذب مواد غذایی به ویژه در تنش‌های غیرزیستی، توانسته‌اند به عنوان یکی از عوامل موثر در حوزه کنترل بیولوژیکی بیماری‌ها و القاکنندگان رشد شناخته و مورد استفاده قرار گیرند (Sharon *et al*. 2011; Zhou *et al*. 2020).

علاوه بر قارچ‌های تریکودرما، قارچ‌های میکوریز داخلی با ایجاد ارتباط موثر و مفید با ریشه بیش از ۸۰ درصد از گیاهان، نقش مهمی را در حوزه مقاوم‌سازی گیاهان در مواجهه با تنش‌های زیستی و غیرزیستی ایفاء می نمایند (Mitra 2021). قارچ‌های همزیست با ریشه گیاهان، به واسطه کمک به گیاهان در افزایش جذب آب و مواد معدنی، جذب عناصر غیرمتحرک در خاک به ویژه فسفر، تأثیر فراوانی در رشد و بالا بردن مقاومت گیاه در برابر تنش‌ها دارند (Teste *et al*. 2020; Gerdemann 2020). نقش فیتوهورمون استریگولاکتون با فرم آنالوگ GR24 در تحریک و جوانه‌زنی اسپور میکوریزها به اثبات رسیده است (Besserer *et al*. 2008)، ضمن اینکه نقش بازدارندگی آن روی رشد میسلیومی تعدادی از بیمارگرهای قارچی گیاهی (Dor *et al*. 2011) و نقش کاربردی آن در افزایش قدرت دفاعی گیاه در برابر بیماری نشان داده شده است (Marzec 2016). اخیراً نشان داده شده است که پروتئین‌های میتوژن حرکتی قارچ، در دریافت فیتوهورمون GR24 نقش اساسی بازی می‌کنند (Pineda-Martos *et al*. 2021). در مطالعه‌ای که روی گیاهان گندم زمستانه (*Triticum aestivum* L.) انجام گرفت، نتایج نشان داد که استفاده از فیتوهورمون GR24 باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شده است (Sedaghat *et al*. 2017).

با توجه به اهمیت کنترل بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی به ویژه در ارقام پرمحصول و جدید و همچنین لزوم کاهش استفاده از روش‌های شیمیایی برای کنترل این بیماری، در این تحقیق تاثیر دو گونه قارچ عامل کنترل‌کننده زیستی و همچنین فیتوهورمون GR24 به تنهایی و در ترکیب با هم، در میزان افزایش مقاومت دو رقم گوجه‌فرنگی در برابر بیماری پژمردگی فوزاریومی بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

کاشت گیاهان در شرایط گلخانه

در این پژوهش که در گلخانه پژوهشی دانشگاه یزد انجام گرفت، از دو رقم گوجه‌فرنگی کاپتین و ۴۱۲۹ استفاده شد. ابتدا بذرها با محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت دو دقیقه برای از بین بردن لایه قارچکش تیمار شده و سپس سه مرتبه با آب مقطر استریل شستشو و روی کاغذ صافی زیر هود زیستی دارای فیلتر هپا خشک شدند. از سیب زمینی دکستروز

آگار (PDA: Potato Dextrose Agar) در تشتک‌های ۹ سانتی‌متری برای جوانه‌زنی بذرها استفاده شد. بعد از قرار دادن تشتک‌ها در انکوباتور به مدت سه روز، گیاهچه‌های تازه رشد کرده به دقت و ظرافت در گلدان‌های ۱۸ سانتی‌متری حاوی پیت ماس استریل منتقل و روی آنها با ماسه استریل پوشانده شد و در بازه‌های زمانی دو روز یک‌بار با آب شهری آبیاری شد.

جدایه‌های قارچی مورد استفاده در این تحقیق

جدایه استاندارد قارچ Fol استفاده شده در این تحقیق از بخش گیاه پزشکی دانشگاه ولی عصر رفسنجان تهیه گردید. تعیین هویت این گونه با استفاده از آغازگرهای اختصاصی گونه انجام شده بود. بیماری‌زایی این جدایه ابتدا روی رقم کاپتین اثبات گردید و مجدداً از گیاهان بیمار شده جدا و خالص‌سازی شد. همچنین جدایه CGF-11 قارچ *Trichoderma reesei* از مجموعه قارچ‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد و قارچ اندومیکوریز *Rh.izophagus irregularis* به صورت کود مایع حاوی اسپور (۲۰۰ اسپور/میلی لیتر) قارچ از شرکت فرانسوی Agro-Nutrition (Toulouse, France) تهیه شد.

تهیه فیتوهورمون استریگولاکتون

فیتوهورمون GR24 با وزن مولکولی ۱۲۸ گرم در مول به مقدار ۴/۵ میلی‌گرم به عنوان هدیه از طرف پروفسور کریستوف روکس (رییس موسسه ملی تحقیقاتی تولوز فرانسه) در سفر به ایران دریافت شد. از حلال استون شرکت مِرک آلمان برای تهیه غلظت یک مولار استفاده گردید و سپس از استوک اولیه در آب، غلظت 10^{-6} مولار تهیه گردید و در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

تلقیح عامل بیماریزا و عوامل بیوکنترل

تیمار گیاه توسط قارچ‌ها قبل از مایه‌زنی عامل بیماریزا انجام گردید. از توئین ۲۰ به مقدار ۲-۳ قطره در ۵۰۰ میلی لیتر از محلول فیتوهورمون، جهت افزایش چسبندگی، در اسپری برگی بعد از مرحله چهار برگی و سه بار در یک هفته استفاده شد. همزمان با اسپری‌پاشی برگی فیتوهورمون، تعداد ۵ عدد بذر گندم آغشته به قارچ تریکودرما با خاک اطراف ریشه مخلوط گردید. اسپورهای قارچ میکوریز (۵ میلی‌لیتر حاوی ۱۰۰۰ اسپور) در ناحیه ریشه گیاه اضافه شد. قارچ بیمارگر فوزاریوم روی محیط کشت برگ میخک- آگار (Carnation Leaf Agar) کشت و به مدت یک هفته در انکوباتور با دمای ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری گردید. سپس سطح محیط کشت حاوی اسپورهای قارچ خراش داده شد و اسپورها در ظرف سترون جمع آوری شدند. تراکم سوسپانسیون اسپوری با استفاده از لام هماسیتومتر تعیین و در غلظت 10^{7} اسپور در هر میلی‌لیتر تنظیم گردید. در مرحله شش برگی، با استفاده از یک اسکالپل استریل زخم کوچکی در ناحیه در زیر طوقه ایجاد و یک میلی لیتر از سوسپانسیون اسپوری (تعداد 10^{7} اسپور در هر میلی‌لیتر) به پای بوته اضافه شد و اطراف محل زخم با ماسه استریل پوشانده شد (Sabbagh, *et al.* 2020).

ارزیابی شدت بیماری

شدت بیماری در گیاهان تیمار شده پس از گذشت ۳۵ روز بعد از تلقیح عامل بیماریزا به صورت رتبه‌دهی چهارتایی (۰-۳) دسته بندی و با استفاده از فرمول زیر، شدت بیماری به درصد بیماری‌زایی تبدیل گردید. گیاه به ظاهر سالم و فاقد علائم (۰)، گیاهان با رنگ زرد روشن برگها و تغییر رنگ ملایم ریشه ها و طوقه (۱)، گیاهان با زردی رنگ برگ بیشتر و با علائم کم و بیش پژمردگی و تغییر رنگ قهوه‌ای حلقه آوندی و نکروز منطقه طوقه (۲)، گیاهان دارای برگ های زرد زیاد و پژمردگی غالب که مجر به مرگ شده (۳).

با توجه به رتبه بندی فوق میزان شدت بیماری بر اساس فرمول زیر تعیین گردید (Hosseini *et al.* 2020).

$$DS(\%) = \sum (ni + vi)100/N \times V$$

در این فرمول ni = تعداد نمونه های با رتبه یکسان

vi = شاخص رتبه دهی برای هر نمونه

N = تعداد کل نمونه های مورد آزمایش

V = بالاترین رتبه در بین نمونه ها

بررسی فعایت آنزیم های سیستم دفاعی میزبان

جهت بررسی فعالیت‌های آنزیم‌های مرتبط با سیستم دفاع، برگ‌های بوته‌های تیمار شده در چهار بازه زمانی نمونه‌برداری شدند. از هر بوته دو برگ برداشته و بقیه برگ‌ها به‌همراه بوته کامل برای بررسی اجزاء عملکرد نگهداری گردید.

تهیه عصاره آنزیمی

مقدار پنج گرم از بافت تازه برگ‌های گیاهان تیمار شده در هاون چینی سرد اضافه شد. بافت برگ‌ها در داخل بافر عصاره‌گیری شامل فسفات پتاسیم ۰/۵ میلی مولار (pH=۷)، (

EDTA۰/۱ میلی مولار) و پلی وینیل پیرولیدون (۱٪) کاملا خرد گردید. عصاره بدست آمده به مدت ۲۵ دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت۱۴۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید و پس از اتمام سانتریفیوژ، از فاز بالایی عصاره برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی استفاده شد (Amal *et al.* 2010).

سنجش میزان پروتئین برگ

مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی تهیه شده در فوق را با سه میلی لیتر آب مخلوط گردید. سپس محلول C شامل ۵۰ میلی لیتر محلول A (کربنات سدیم ۲٪ و هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال) و یک میلی لیتر از محلول B (سولفات مس ۰/۵٪ و سدیم پتاسیم تارتارات ۱٪) تهیه و به آرامی تکان داده شد. پس از گذشت مدت ۱۰ دقیقه، مقدار ۰/۵ میلی لیتر محلول رقیق شده فولین در آب مقطر (۱:۱) با ۵ میلی لیتر از محلول C ترکیب گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری گردید.. میزان جذب نوری محلول واکنش با طول موج ۶۶۰ نانومتر اندازه گیری گردید و غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلبومن گاوی محاسبه و بر حسب میکروگرم پروتئین در گرم وزن تر گیاه محاسبه شد (Warwate *et al.* 2017).

سنجش میزان فنل کل برگ

از معرف فولین برای اندازه‌گیری فنل کل در عصاره برگی استفاده شد (Temraz & Tantway 2008). برای تهیه منحنی استاندارد مقادیر متفاوتی از محلول الکلی گالیک اسید (۰/۰۲۴، ۰/۰۷۵، ۰/۱۰۵ و ۰/۳ میلی گرم/ میلی لیتر) با ۵ میلی لیتر معرف فولین (۱۰ برابر رقیق شده) و ۴ میلی لیترکربنات سدیم (۷۵ گرم/لیتر) مخلوط گردید. میزان جذب نوری بعد از مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد با طول موج نوری ۷۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف سنج (Analytik Jena, Spekol 1300, Germany) قرائت گردید و منحنی استاندارد رسم شد. مقدار یک میلی لیتر از عصاره گیاهی با معرف های فوق به همان اندازه مخلوط گردید و بعد از ۱ ساعت میزان جذب نوری اندازه گیری شد. برای هر تیمار ۳ تکرار اندازه گیری شد

تعیین فعالیت آنزیم کاتالاز

برای اندازه‌گیری مقدار آنزیم کاتالاز در ابتدا مقدار ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم (۱۰۰ میلی مولار، pH=۷) و ۰/۳ میلی‌لیتر آب اکسیژنه (۱۵۰ میلی مولار) در حمام یخ با یکدیگر مخلوط شدند و بلافاصله ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی به آن افزوده شد. منحنی تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف‌سنج (Analytik Jena, Spekol 1300, Germany) خوانده شد. واکنش با افزودن پراکسید هیدروژن آغاز شد و کاهش جذب به مدت سه دقیقه اندازه‌گیری گردید. مقدار آنزیم بر حسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر گرم وزن تر بافت گیاهی محاسبه گردید (Kumar *et al.* 2010).

تعیین فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز

جهت سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز از مخلوط بافری، شامل فسفات سدیم ۰/۲ مولار و سیترات منوهیدرات ۰/۱ مولار (pH= ۶/۵) استفاده شد. معرف پیروگالول به مقدار ۱/۳۷ گرم در ۲۵ میلی لیتر از بافر فوق حل شده و مجدداً نسبت ۱:۱۰ در محلول بافری فوق رقیق و به مدت ۳۰ دقیقه تکان و همگن گردید. برای انجام واکنش، ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی با ۲/۸ میلی لیتر از محلول پیروگالول مخلوط و میزان تغییر در جذب نور با طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه طیف سنج اندازه گیری شد (Haplin & Lee 1987).

تعیین فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از معرف گایاکول به عنوان سوبسترا با توجه به میزان افزایش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در ابتدا مقدار ۰/۵ درصد حجمی از گایاکول (۲۰ میلی مولار) در بافر فسفات پتاسیم (۰/۰۱ مولار،pH= ۶) به مدت ۳۰ دقیقه تکان داده تا همگن گردید. مقدار۳۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه (۰/۱ مولار) قبل از استفاده اضافه شد. میزان ۲/۵ میلی لیتر از بافر و معرف فوق با ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی واکنش داده شد و میزان جذب نوری با طول موج ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید (Haplin & Lee 1987).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

این پژوهش به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار برای هر تیمار انجام گرفت. از آب مقطر استریل برای نمونه‌های شاهد در محلول‌پاشی برگ‌ها استفاده شد. داده‌های حاصل از بررسی آنزیمی و اثر ساده و متقابل تیمارها بر شدت بیماری، پس از اطمینان از نرمال بودن با استفاده از آزمون کولموگرف-اسمیرینف در نرم افزار SPSS و با آنالیز واریانس یکطرفه تجزیه و میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال آماری ۵ درصد مقایسه شدند. نمودارها توسط نرم افزار Excel رسم گردیدند.

نتایج

تاثیر تیمارهای مورد مطالعه بر شدت بیماریزایی

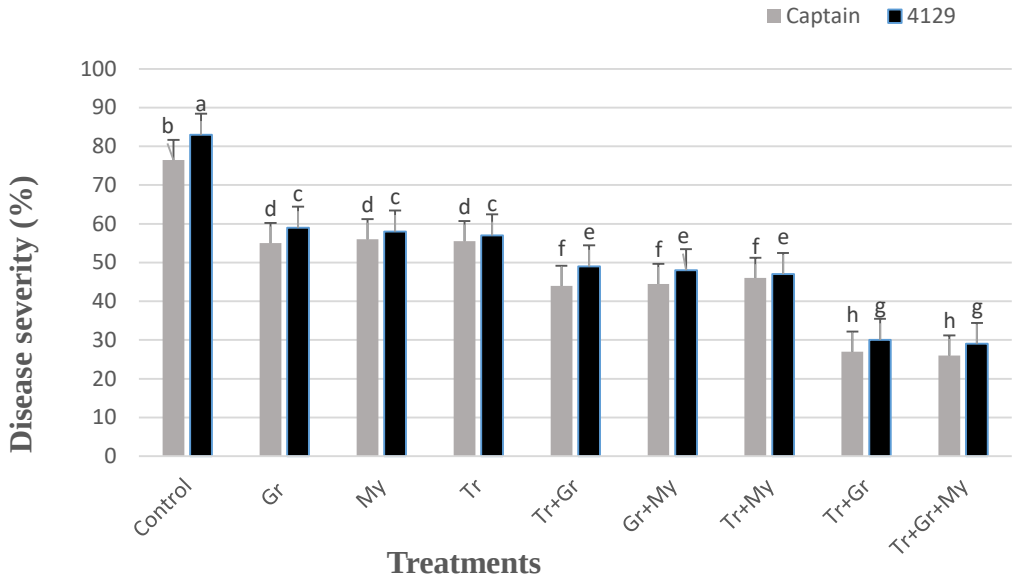
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثرات رقم، تیمار قارچ های عامل بیوکنترل، به صورت ساده و متقابل تاثیر معنی‌داری بر شدت بیماری داشتند.

جدول ۱. تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تأثیر رقم، قارچهای *Trichoderma reesei*، *Rhizophagus irregularis* و فیتوهورمون GR24 روی شدت بیماری پژمردگی فوزاریومی در دو رقم گوجه‌فرنگی کاپتین و ۴۱۲۹.

Table 1. ANOVA of the data related to the effect of *Trichoderma reesei*, *Rhizophagus irregularis* and GR24 phytohormone on the severity of fusarium wilt disease in two tomato cultivars, Captain and 4129.

	Mean of Square								
S.O.V	**Cultivar**	***Rh. irregularis***	***T. reesei***	**GR24**	**Cultivar× *Rh. rregularis***	**Cultivar× *T. reesei***	**Cultivar ×GR24**	**Quadruple interaction**	**Error**
Disease Severity	84.5*	14112***	16290.13***	257.11***	304.22*	238.35*	219.38**	616.58***	48.39

*, ** and,*** significantly different at 5, 1 and 0.1% of probability levels, respectively



شکل ۱. نمودار شدت بیماریزایی بیماری پژمردگی فوزاریومی در دو رقم گوجه‌فرنگی کاپتین و ۴۱۲۹ با کاربرد تیمارهای قارچ *Trichoderma reesei*، *Rhizophagus irregularis* و فیتوهورمون GR24 به شکل تنها و ترکیبی.

Figure 1. Disease severity diagram of fusarium wilting disease in two tomato cultivars, Captain and 4129, treated with *Trichoderma reesei*, *Rhizophagus irregularis* and GR24 phytohormone alone and in combination.

مقایسه میانگین داده‌های حاصل از شدت بیماری در بوته‌های دو رقم گوجه‌فرنگی کاپتین و ۴۱۲۹ پس از گذشت ۳۵ روز بعد از تلقیح عامل بیماری‌زا نشان داد که تاثیر تیمارها با توجه به نوع رقم در کاهش شدت بیماری متفاوت است، به نحوی که داده های حاصل از تعیین شدت بیماری‌زایی برای تیمارهای منفرد، مقادیر نزدیک بهم را نشان می دهند که می توانند تقریبا اثر مشابهی را در نوع اثربخشی در کاهش بیماری از خود نشان دهند. ولی با کاربرد تیمارها به صورت ترکیبی، شدت بیماری به طور معنی‌داری نسبت به حالت کاربرد منفرد کاهش یافت. بیشترین میزان کاهش بیماری به ترتیب به میزان ۷۴ و ۷۱ درصد در رقم‌های کاپتین و ۴۱۲۹ با کاربرد ترکیبی از تیمارهای هر دو قارچ و فیتوهورمون به دست آمد. با توجه به نتایج ارایه شده در شکل ۱، مشخص گردید که کمترین میزان تأثیر تیمارها روی شدت بیماری با مقادیر عددی نزدیک به‌هم، مربوط به کاربرد تیمارهای هورمون GR24 و قارچ‌ها به تنهایی می باشد.

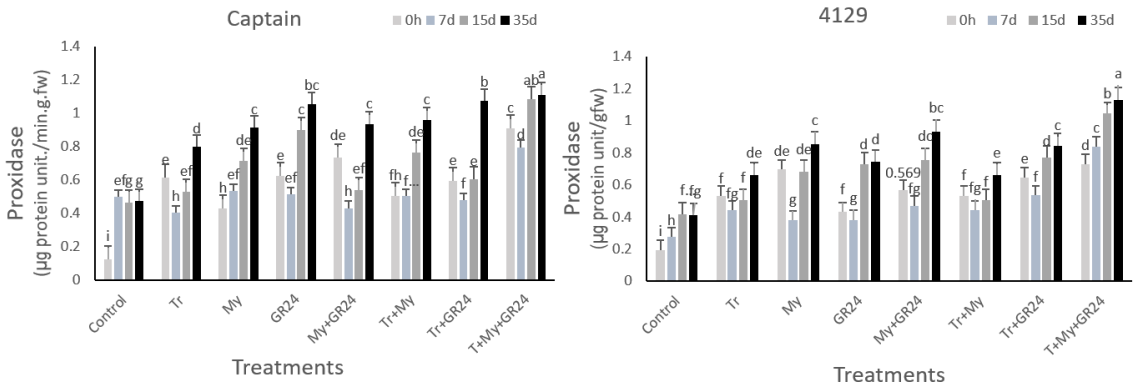
تأثیر تیمارهای مورد مطالعه بر فعالیت های آنزیمی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. با توجه به داده‌های موجود در این جدول مشاهده می شود که اثرات رقم و تیمار قارچ های مورد بررسی به صورت ساده و متقابل تاثیر معنی‌داری روی فعالیت های آنزیمی داشته‌اند.

تاثیر تیمارها بر تولید آنزیم پراکسیداز

با توجه به تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱)، تیمارهای قارچ تریکودرما و فیتوهورمون GR24 هر کدام در بازه های زمانی مختلف در سطح احتمال آماری یک درصد، اثر معنی‌داری بر میزان تولید آنزیم پراکسیداز در دو رقم مورد بررسی گوجه‌فرنگی نشان دادند.

نتایج حاصل از بررسی آنزیمی نشان داد که بیشترین میزان تاثیر تیمارها در بازه زمانی ۳۵ روز برای هر دو رقم بعد از تلقیح عامل بیماری صورت گرفت. مقدار آنزیم تولید شده در ساعت‌های اولیه مایه زنی تغییرات قابل ملاحظه ای را نشان نداد ولی با گذشت زمان مقدار آنزیم افزایش یافت. در رقم کاپتین میزان افزایش آنزیم پراکسیداز در ساعات اولیه مایه‌زنی (صفر) و هفت روز بعد از مایه‌زنی عامل بیماری‌زا به ترتیب ۰/۴۹ و ۰/۴۶میکروگرم پروتئین بود ولی مقدار آنزیم پس از گذشت ۳۵ روز از مایه‌زنی عامل بیماری‌زا و برای تیمار ترکیبی از هر سه عامل مقدار ۱/۱۱ میکروگرم پروتئین بود که نشان از تاثیر این عوامل در افزایش فعالیت آنزیمی دارد. در رقم ۴۱۲۹ نیز بیشترین مقدار تولیدی آنزیم (۱/۲۹ میکروگرم پروتئین) مربوط به تیمار ترکیب هر سه عامل بود (شکل ۲).



شکل۲. تاثیر تیمارهای قارچ *Trichoderma reesei*، *Rhizophagus irregularis* و فیتوهورمون GR24 به صورت تنها و ترکیبی بر میزان تولید آنزیم پراکسیداز در ۴ بازه زمانی بعد از مایه‌زنی با قارچ *Fol* در دو رقم گوجه‌فرنگی کاپتین و 4129.

Figure 2. The effect of *Trichoderma reesei*, *Rhizophagus irregularis* fungi and GR24 phytohormone treatments alone and in combination on Proxidase enzyme production at four time periods after inoculation with *Fol* in two Captain and 4129 tomato cultivars.

جدول ۲. تجزیه واریانس داده‌های مربوط در مطالعه تأثیر رقم، قارچ‌های *Trichoderma reesei*، *Rhizophagus irregularis* و فیتوهورمون GR24 و بازه زمانی در تولید تعدادی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، فنل و پروتئین کل در دو رقم گوجه فرنگی کاپتین و ۴۱۲۹.

Table 2. ANOVA of related data in study of the effect of *Trichoderma reesei*, *Rhizophagus irregularis*, GR24 phytohormone and, time on production of some antioxidant enzymes, phenol and total protein in two tomato cultivars, Captain and 4129.

S.O.V	df	Mean of square				
		Catalase	Peroxidase	Polyphenol oxidase	Phenol	Protein
Cultivar	1	0.007^{ns}	0.323^{ns}	0.008^{ns}	3.068^{ns}	5.565^{ns}
T. *reesei* × control	1	1.477***	1.984**	1.000***	27.112***	9.323^{ns}
GR24 × control	2	1.513***	1.528**	1.248***	16.966***	10.252^{ns}
R. irregularis × control	1	1.922***	0.152^{ns}	1.539***	9.372^{ns}	13.510^{ns}
Time	3	0.938***	7.778***	1.882***	8.072^{ns}	5.009***
Cultivar × *T. reesei*	1	0.176***	0.141^{ns}	1.957^{ns}	5.228^{ns}	6.671^{ns}
Cultivar × GR24	2	0.008^{ns}	0.340^{ns}	0.020**	1.887^{ns}	7.229^{ns}
Cultivar × *Rh. irregularis*	1	0.009^{ns}	0.067^{ns}	0.000^{ns}	1.149^{ns}	4.283^{ns}
Cultivar × Time	3	0.039***	0.321^{ns}	0.112***	2.457^{ns}	5.225^{ns}
Cultivar × T. *reesei* × Time	6	0.037***	0.475^{ns}	0.018***	2.417^{ns}	5.548^{ns}
Cultivar × GR24 × Time	12	0.021***	0.290^{ns}	0.034***	2.515^{ns}	5.427^{ns}
Cultivar × *Rh. irregularis* × Time	6	0.117***	0.269^{ns}	0.027***	0.641^{ns}	5.444^{ns}
Cultivar × *T. reesei* × GR24 × Time	16	0.051***	0.345^{ns}	0.031***	1.877^{ns}	5.172^{ns}
Cultivar × T. *reesei* × *Rh. irregularis* × Time	8	0.143***	0.185^{ns}	0.045***	1.108^{ns}	5.401^{ns}
Cultivar × GR24 × *Rh. irregularis* × Time	16	0.055***	0.300^{ns}	0.049***	1.606^{ns}	5.238^{ns}
Cultivar × *T. reesei* × GR24 × *Rh. irregularis* × Time	16	0.076***	0.305^{ns}	0.064***	2.891^{ns}	5.382^{ns}
Error	192	0.002	0.234	0.003	1.850	5.391
R^2 (%)		97.4	85.2	96.8	73.6	83.9

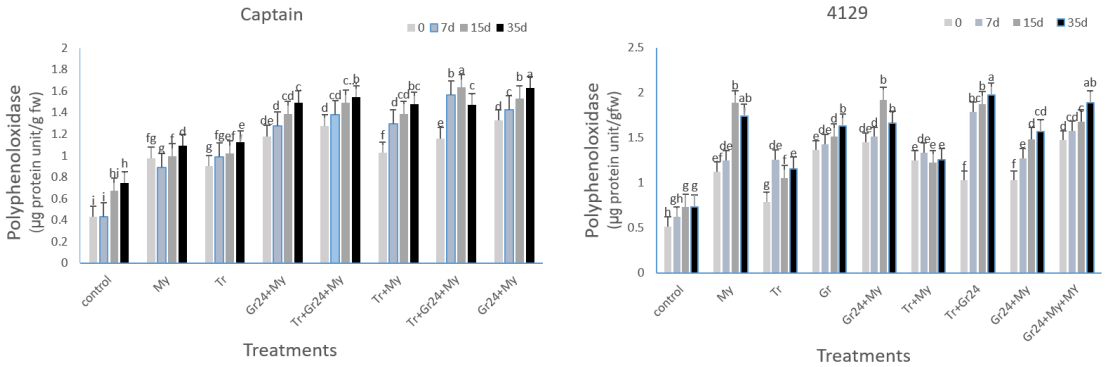
ns, ** and *** non-significantly different, significantly different at 1 and 0.1% of probability levels, respectively

نتایج ارایه شده در شکل ۲ نشان می‌دهد که تولید آنزیم در تمام بازه‌های زمانی مورد بررسی بعد از مایه‌زنی عامل بیماری‌زا در مقایسه با تیمار شاهد افزایش داشته است. برای تیمارهای تنها، کمترین میزان آنزیم برای هر ۴ بازه زمانی مربوط به تیمار تریکودرما رییسی به‌دست آمد. کاربرد همزمان سه عامل بیوکنترل بیشترین تاثیر را در روند افزایش تولید آنزیم نشان داد. در این تیمار بازه‌های زمانی در دو رقم گوجه‌فرنگی تغییرات متفاوتی را نشان دادند بطوریکه در رقم کاپتین دو هفته بعد از مایه‌زنی عامل بیماریزا میزان آنزیم کاهش یافته و سپس در بازه‌های بعدی تا ۳۵ روز این مقدار افزایش یافته است. در تیمار ترکیبی از سه عامل بیوکنترل در رقم کاپتین، میزان افزایش آنزیم برای دو بازه زمانی ۱۵ (۱/۰۸ میکروگرم پروتئین) و ۳۵ روز (۱/۱۱ میکروگرم پروتئین) تقریباً بهم نزدیک می باشد ولی برای رقم ۲۱۴۹ در این دو بازه میزان تغییرات فعالیت آنزیمی اختلاف معنی‌داری را نشان داد.

تاثیر تیمارها بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل رقم، قارچ های *T. reesse*i، *Rh. irregularis* و همچنین فیتوهورمون GR24، و بازه‌های زمانی، بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در سطح احتمال آماری ۰/۱درصد معنی‌دار است (جدول۱). همچنین بر اساس نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها، بیشترین مقدار آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در رقم کاپتین مربوط به تیمار ترکیب هر سه عامل بررسی شده در بازه زمانی ۱۵ روز بعد از مایه‌زنی می‌باشد (۱/۶۳ میکروگرم پروتئین). مقدار فعالیت این آنزیم برای بازه زمانی ۷ روز بعد از مایه‌زنی (۱/۵۳ میکروگرم پروتئین) به‌دست آمد که تفاوت معنی‌داری با بازه زمانی ۱۵ روز بعد از تلقیح نداشت ولی در این رقم در بازه زمانی ۳۵ روز بعد از تلقیح میزان فعالیت آنزیم کاهش یافته است. که می‌تواند ناشی از کاهش فعالیت قارچ در گیاه آلوده باشد. بربر اساس نتایج ارائه شده در شکل ۳، در رقم ۴۱۲۹، بیشترین مقدار آنزیم (۱/۹۷ میکروگرم پروتئین) و در بازه زمانی ۳۵ روز بعد از تلقیح مشاهده شد.

تیمارهای قارچ میکوریز به تنهایی و ترکیب با فیتوهورمون GR24 به ترتیب با افزایش فعالیت آنزیمی به ترتیب به مقدار ۱/۸۸ و ۱/۹۲ میکروگرم پروتئین در بازه زمانی ۳۵ روز بعد از مایه‌زنی تاثیر معنی‌داری را در افزایش غلظت آنزیم در رقم کاپتین نشان می‌دهند (شکل ۳).



شکل۳. تاثیر تیمارهای قارچ *Trichoderma reesei*، *Rhizophagus irregularis* و فیتوهورمون GR24 به صورت تنها و ترکیبی بر میزان تولید آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در ۴ بازه زمانی بعد از مایه‌زنی با قارچ Fol در دو رقم گوجه‌فرنگی کاپتین و ۴۱۲۹

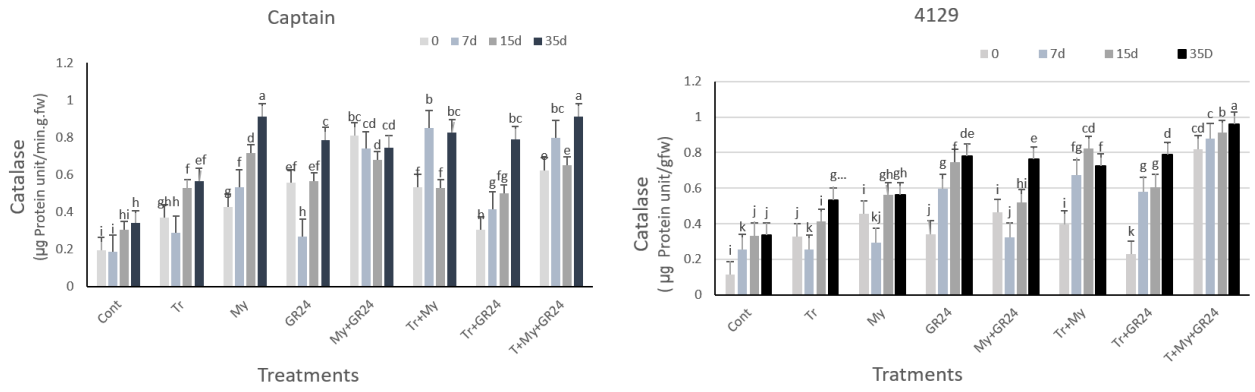
Figure 3. The effect of *Trichoderma reesei*, *Rhizophagus irregularis* and GR24 phytohormone treatments alone and in combination on polyphenoloxidase enzyme production at four time period after inoculation with *Fol* in two Captain and 4129 tomato cultivars

تاثیر تیمارها بر فعالیت کاتالاز

تجزیه واریانس داده‌های به‌دست آمده از این مطالعه نشان داد که اثر متقابل رقم، قارچ های *T. reesse*i، *Rh. irregularis* و فیتوهورمونGR24 و همچنین بازه‌های زمانی بعد از مایه‌زنی عامل بیماری‌زا بر میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در سطح احتمال آماری ۰/۱ درصد معنی‌دار است (جدول ۱).

بررسی اثر تیمارهای مورد استفاده در رقم کاپتین نشان از افزایش فعالیت آنزیمی در تمام تیمارها و بازه‌های زمانی دارد. بیشترین افزایش مربوط به تیمار قارچ *Rh. irregularis* (۰/۹۱۳ میکروگرم پروتئین) در بازه زمانی ۳۵ ساعت بعد از مایه‌زنی عامل بیماری می‌باشد. ترکیب سه عامل مورد بررسی با هم نیز در همین بازه زمانی مقدار تقریباً یکسانی را نسبت به

کاربرد میکوریز به تنهایی (۹۲/ میکروگرم پروتئین) نشان داد. در رقم ۴۱۲۹ میزان افزایش فعالیت آنزیم مروط به تیمار ترکیبی ۳ عامل بیوکنترل می باشد و بیشترین مقدار آن (۰/۹۶ میکروگرم پروتئین) در بازه زمانی ۳۵ روز بعد از تلقیح عامل بیماریزا مشاهده می‌شود. روند افزایش برای فعالیت این آنزیم در رقم ۴۱۲۹ تنها در تیمار ترکیبی ۳ عامل بررسی شده به دست آمد و در بقیه تیمارها فعالیت آنزیمی تغییرات متفاوتی را نشان می‌دهد (شکل ۴).

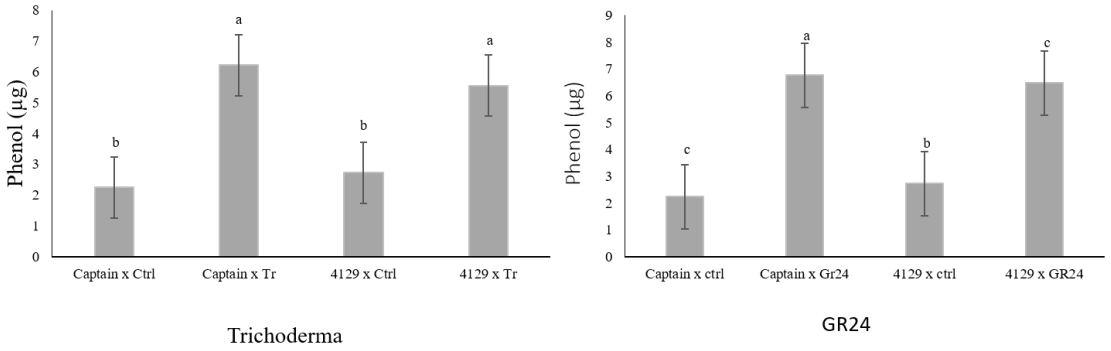


شکل۴. تاثیر تیمارهای قارچی *Trichoderma reesei*، *Rhizophagus irregularis* و فیتوهورمون GR24 به صورت تنها و ترکیبی بر میزان تولید آنزیم کاتالاز در ۴ بازه زمانی بعد از مایه زنی با قارچ Fol در دو رقم گوجه‌فرنگی کاپتین و ۴۱۲۹

Figure 4. The effect of *Trichoderma reesei*, *Rhizophagus irregularis* fungi and GR24 phytohormone in single and combination forms on Catalase enzyme production at four time period after inoculation with *Fol* in two Captain and 4129 tomato cultivars

تاثیر تیمارها بر محتوای فنل کل و پروتئین برگ

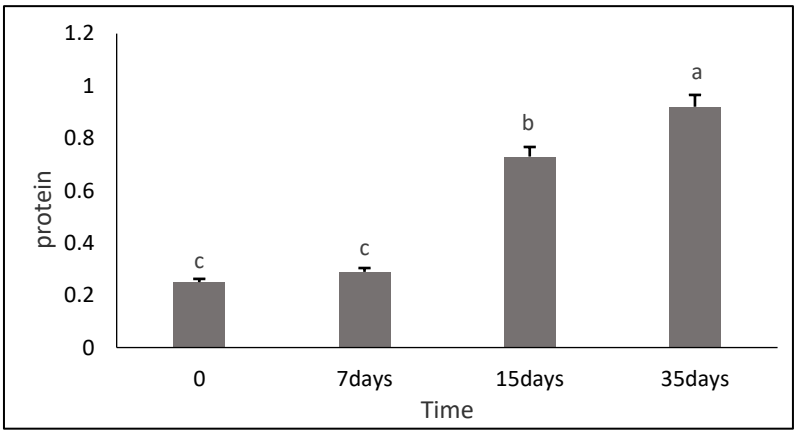
جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل رقم، قارچ‌های *T. reess*ei، *Rh. irregularis* و فیتوهورمون GR24 و همچنین بازه‌های زمانی بعد از مایه‌زنی قارچ عامل بیماری‌زا روی محتوای فنل کل و پروتئین اندازه‌گیری شده در سطح احتمال آماری ۰/۱ درصد برای تعدادی از تیمارها معنی‌دار بود (جدول ۲). میزان تغییرات فنل اندازه‌گیری شده نسبت به تیمار شاهد فقط برای تیمارهای قارچ تریکودرما و فیتوهورمون GR24 معنی دار بود. همانطوریکه در شکل ۵ مشاهده می شود بیشرین میزان افزایش فنل در این تیمارها مربوط به رقم کاپتین می باشد.



شکل۵. تاثیر تیمارهای قارچ *Trichoderma reeseis* و فیتوهورمون GR24 بر میزان تولید فنل کل (میکروگرم/گرم وزن تر گیاه) در دو رقم گوجه‌فرنگی کاپتین و 4129.

Figure 5. The effect of *Trichoderma reesei* and GR24 phytohormone on total phenol production (µg/gfw) in two tomato cultivars, Captain and 4129.

مقایسه میانگین داده‌های حاصل از اثر بازه‌های زمانی در تجمع میزان پروتئین‌برگ نشان داد که بیشترین مقدار تولید (۱/۶۶ میکروگرم پروتئین) در بازه زمانی ۳۵ روز بعد از مایه‌زنی عامل بیماری در حضور تیمارها رخ داده است (شکل ۵). در مقایسه با زمان صفر و مراحل اولیه بیماری میزان افزایش ۵ برابری در تولید پروتئین در گیاهان تیمار شده دیده شده است (شکل ۶).



شکل۶. اثر متقابل زمان و رقم در مطالعه تاثیر تیمارهای قارچ *Trichoderma reesei*، *Rhizophagus irregularis* و فیتوهورمون GR24 بر تولید پروتئین کل (میکروگرم پروتئین/گرم وزن تر گیاه).

Figure 5. Interaction effect of time and cultivar in study of the effect of *Trichoderma reesei*, *Rhizophagus irregularis* fungi and GR24 phytohormone treatments on total protein production (µg/gfw) in two Captain and 4129 tomato cultivars.

بحث

بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی یکی از بیماری‌های مخرب این محصول به‌ویژه روی رقم‌های حساس پرمحصول در شرایط گلخانه می‌باشد. در این تحقیق اثر چند تیمار در افزایش میزان مقاومت دو رقم گوجه فرنگی آلوده به بیماری پژمردگی فوزاریومی مورد برررسی قرار گرفت. استفاده از گونه‌های مختلف تریکودرما در کنترل زیستی بیمارگرهای مختلف در منابع مختلف علمی مورد بررسی قرار گرفته است. فعالیت ضدزیستی این گونه به علت وجود آنزیم‌هایی نظیر سلولاز و پکتیناز می باشد که اثر بازدارندگی بر روی عوامل قارچی بیماری‌زا دارند (Adnan *et al.* 2019).

در یک مطالعه آزمایشگاهی، تاثیر گونه قارچی *T. harzianum* به همراه اسید سالیسیلیک در کاهش بیماری پژمردگی فوزاریومی ناشی از قارچ *F. oxysporum* fsp. *lycopercisis* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی فعالیت آنزیمی دو آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز، ۲۸ روز بعد از مایه‌زنی قارچ عامل بیماری، نشان داد که ترکیب این عامل بیوکنترل با یک هورمون با غلظت پایین (۳۰ میلی مولار) قادر به افزایش میزان تولید آنزیم های مورد مطالعه شده است (Ojha & Chatterjee 2012). در ارتباط با فیتوهورمون گیاهی GR24، مطالعات مختلف نشان داده است که فعالیت این هورمون در غلظت های بسیار پایین نتایج قابل ملاحظه‌ای در افزایش میزان تقسیم میتوز و همچنین شرایط رشدی قارچ *Gigaspora rosea* (Besserer *et al.* 2008) و همچنین افزایش الگوی رشد تعدادی از قارچ های بیمارگر گیاهی شده است (Dor *et al.* 2011).

در این مطالعه بازه‌های زمانی مختلف جهت بررسی دقیقتر و حداکثری اثر عوامل بیوکنترل در ایجاد مقاومت در نظر گرفته شد. در بازه زمانی صفر، گیاهان تقویت شده با عوامل بیوکنترل بدون ایجاد استرس بیماری مورد بررسی قرار گرفتند تا امکان مقایسه اثر بیماری و عوامل بیوکنترل به طور مستقل بر افزایش فعالیت های مورد بررسی به وجود آید. انتخاب بازه‌های زمانی براساس نوع عامل بیمارگر متفاوت است به‌نحوی که در بیماری‌های بوته‌میری و ویروسی به علت فعالیت بیماریزایی بالای عامل بیماریزا و مرگ سریع اندام مورد حمله، لازم است در ساعات و روزهای نخستین بعد از بیماریزایی، نمونه‌برداری صورت گیرد (Sabbagh *et al.* 2021). بر اساس تجربیات بدست آمده در کارهای مشابه، ظهور علایم پژمردگی برگ‌ها در

بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی حداکثر تا یک ماه بعد از مایه‌زنی اتفاق می‌افتد بنابراین در این مطالعه با توجه به تجربیات قبلی، آخرین بازه زمانی بازه پنج هفته بعد از تلقیح انتخاب گردید و نتایج نشان داد که در این بازه زمانی نسبت به بازه‌های قبلی، حداکثر میزان تولید آنزیم اتفاق افتاده است. لازم به ذکر است که این افزایش می‌تواند برای بازه‌های زمانی بیشتر تا قبل از پژمردگی کامل اتفاق افتد ولی با ایجاد پژمردگی و مرگ گیاه میزان این آنزیم‌ها کاهش شدیدی خواهند داشت.

پاسخ های دفاعی از طریق افزایش ترکیبات فنلی و پروتئین کل به عنوان یکی از مهمترین شاخص‌های ایجاد مقاومت در گیاهان خیار و گوجه فرنگی تحریک شده با جدایه های مختلف قارچ تریکودرما (Nawrocka *et al.* 2011) و همچنین در گوجه فرنگی آلوده به ریزوکتونیا (Heflish *et al.* 2021) نشان داده شده است که با نتایج این تحقیق، مطابقت دارد.

با توجه به تاثیر قابل قبول کاربرد هورمون‌های گیاهی در حوزه بیماری‌شناسی گیاهی و همچنین لزوم رعایت مدیریت تلفیقی در راستای بالا بردن تاثیر عوامل بیوکنترل در افزایش مقاومت گیاه، فرموله کردن محصولات ترکیبی به شکل مایع ضروری به نظر می‌رسد. لازم به ذکر است که تهیه فرمول‌های مربوط به ماده نگهدارنده یا سوبسترا که قادر به نگهداری طولانی مدت اسپور قارچ را داشته باشد نیاز به تحقیقات گسترده دارد اگرچه برای قارچ میکوریز این محیط فراهم شده و فرمول آن هم برای شرکت سازنده محفوظ می‌باشد

مطالعات موردی نشان از اثر هم افزایی دو قارچ تریکودرما و میکوریز در افزایش فعالیت‌های بیوشیمیایی و هورمونی و درنتیجه بالابردن مقاومت گیاه در حالت بیماری دارد (Tchameni *et al.* 2011) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. در این تحقیق نیز نشان داده شد که اثر ترکیبی این دو عامل از اثر تکی بیشتر است.

استریگولاکتون‌ها به عنوان عوامل مهم در جوانه‌زنی اسپور قارچ‌های میکوریز شناخته می‌شوند و با توجه به لزوم فعالیت هرچه سریعتر قارچ میکوریز در مجاورت با ریشه در حال رشد و همچنین کمک در جوانه زدن سریع اسپور میکوریز و کلنیزه کردن ریشه گیاه و کاهش فعالیت عامل بیماری‌زا از طریق فعالیت رقابت مکانی، استفاده از آنها قبل از کاشت و بصورت مخلوط با خاک به ویژه در کشت های کم حجم مربوط به تولید نهال در گلخانه‌ها ضروری به نظر می رسد.

در اکثر مطالعات مربوط به ایجاد مقاومت از فرمولاسیون سوبسترای خاک میکوریزه استفاده می شود که علاوه بر دقیق نبودن تعداد اسپور در واحد حجم، حجم زیادی از خاک را باید استفاده کرد که گاهاً توصیه کاربرد میکوریز با چنین فرمولاسیونی برای کشاورزان مقدور نمی باشد. در این تحقیق از فرمولاسیون مایع میکوریز برای اولین بار در ایران استفاده گردید که در صورت دسترسی به فرمولاسیون مایع آن در ایران، مصرف آن مورد توجه بیشتر قرار خواهد گرفت.

در یک مطالعه تحقیقاتی، اثر تعدادی از استریگولاکتون‌های طبیعی و مصنوعی بر روی جوانه‌زنی اسپور و رشد میسیلیوم قارچ فوزاریوم، عامل بیماری پژمردگی نخود مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد استریگولاکتون‌ها، اثر قابل ملاحظه‌ای در افزایش رشد میسلیومی قارچ نسبت به تیمار شاهد نداشته است (Foo *et al.* 2016). نقش فیتوهورمون GR24 در افزایش تعداد گره‌های باکتری‌های تثبیت کننده ازت (Soto *et al.* 2010) و همچنین کاهش بیماری‌های برگی ناشی از قارچ‌های نکروتروف، اثبات شده است (Torres-Vera *et al.* 2014) که با داده‌های مربوط به کاهش میزان بیماری در این مطالعه مطابقت دارد. با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق، چنین نتیجه‌گیری می‌شود که با توجه به نقش دوگانه استریگولاکتون‌ها در عدم جوانه‌زنی اسپور قارچ‌های بیماریزا و عدم تحریک به رشد میسلیومی این قارچ‌ها، از این هورمون گیاهی می‌توان به عنوان محرکی در القاء جوانه‌زنی اسپور میکوریزها و همچنین افزایش میزان گره‌های باکتری‌های تثبیت کننده ازت در گیاهان مختلف لگومینوزه، در فرمولاسیون کودهای بیولوژیکی محتوی میکوریز استفاده نمود. رسیدن به یک فرمول جامع و کامل علاوه بر پیداکردن مواد و محلول‌های نگهدارنده اسپور قارچ‌ها، مستلزم استفاده از انواع مختلف فرم‌های استریگولاکتون و غلظت‌های متفاوت می‌باشد. چنین ترکیباتی می‌تواند جایگزینی برای پوشش‌های بذر به وسیله قارچکش‌ها مورد استفاده قرار گیرد.

نتایج این تحقیق حاکی از آن بود که *T. reesei* تجمع ترکیبات فنلی را در گیاه موجب می‌شود که نتیجه آن مقاومت به بیماری پژمردگی فوزاریومی بوده است. افزایش فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز به طور هماهنگ در مقاومت بسیاری از گیاهان مشاهده شده است (Mayer 2006). افزایش میزان ترکیبات فنلی، درگوجه‌فرنگی آلوده به بیماری پژمردگی فوزاریومی (Naing *et al.* 2015; Lamia *et al.* 2017) به اثبات رسیده که همگی نشان‌دهنده اثر مثبت کودهای زیستی (مانند

میکوریزا) در القاء مقاومت گیاه به بیماری ایجاد شده می‌باشد. نتایج حاصله حاکی از آن است که وقتی گیاه در تنش با بیماری قرار گرفت، میزان فعالیت آنزیمی کاتالاز به بالاترین سطح خود رسید و این افزایش آنزیمی می‌تواند دلیلی بر عدم تخریب دیواره سلولی باشد. بسیاری از آنتاگونیست‌ها سبب القاء مقاومت در گیاه و تغییر در میزان آنزیم‌هایی نظیر کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز و ترکیبات دیگری نظیر فنل در گیاه می‌شوند (Salehpour *et al.* 2005). بررسی اثرات مستقیم کاربرد باکتری آنتاگونیست *Bacillus subtilis* و اسید سالیسیلیک بررشد قارچ فوزاریوم *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* در شرایط آزمایشگاهی و همچنین تاثیر آنها بر آنزیمهای دفاعی گیاه گوجه فرنگی نشان از تاثیر بالای این عوامل در جلوگیری از رشد قارچ و افزایش مقاومت گیاه گوجه فرنگی داشته است که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (Dashtipoor *et al.* 2018).

در گیاهان تحت تنش، نقش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برای ترمیم و مقاومت در برابر تجمع گونه‌های اکسیژن فعال به اثبات رسیده است (Kapoor *et al.* 2019; Gupta *et al.* 2018). در تنش، گیاهان با افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش میزان پراکسید هیدروژن از طریق تجزیه آن به یون هیدروکسید را باعث می‌شوند. این فعل و انفعالات با جلوگیری از تخریب غشاء سلولی و توقف چرخه انتقال الکترون در کلروپلاست و میتوکندری، از تخریب مولکول‌های DNA و پروتئین‌ها نیز جلوگیری می‌نماید (Kong *et al.* 2018; Ziv *et al.* 2018). کاهش میزان کاتالاز در سلول تحت تنش، منجر به افزایش یون‌های پراکسید هیدروژن شده و می‌تواند با سمی کردن محیط سلولی، سبب مرگ سلول شده و واکنش فوق حساسیت گیاه را فعال نماید. این فعل و انفعالات در گیاهان مقاوم صورت می‌گیرد و در گیاهان حساس یا نیمه مقاوم، واکنش‌های مقاومتی با افزایش رادیکال‌های آزاد همراه با مهار عامل بیماری‌زا بوده است که این افزایش فعالیت آنزیمی شاخصی برای افزایش مقاومت گیاه در نظر گرفته می‌شود. شاخصه های رشدی در گیاهان نیز می توانند به عنوان عوامل تعیین کننده مقاومت گیاه به بیماری در موارد بدون القاگرهای مقاومت (Paras *et al* ., 2018) و همچنین اعمال القاگرهایی مانند عوامل بیوکنترل می تواند مورد بررسی و غربالگری قرار گرفته و بهترین ارقام جهت کشت معرفی گردند. در مطالعات تکمیلی اثر این القاگرها بر روی پارامترهای رشدی دو رقم کاپتین و ۴۱۲۹ مورد ارزیابی قرار گرفت.

سپاسگزاری

این تحقیق در گلخانه و آزمایشگاه زیست شناسی دانشگاه یزد انجام گردید. نویسندگان مقاله از مسئولان دانشکده منابع طبیعی و کویر شناسی دانشگاه یزد تقدیر و تشکر می‌نمایند. از معاونت محترم آموزشی دانشگاه یزد در جهت تسهیل حضور در آزمایشگاههای دانشگاه یزد قدردانی می شود

References

Adnan M, Islam W, Shabbir A, 2019. Plant defense against fungal pathogens by antagonistic fungi with *Trichoderma* in focus. *Microbial Pathogenesis* 129: 7–18.

Amal GA, Orabi S, Gomaa A, 2010. Bio–organic farming of grain sorghum and its effect on growth, physiological and yield parameters and antioxidant enzymes activity. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences* 6: 270–279.

Besserer A, Bécard G, Jauneau A, Roux C, Séjalon–Delmas N, 2008. GR24, a synthetic analog of strigolactones, stimulates the mitosis and growth of the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora rosea* by boosting its energy metabolism. *Plant Physiology* 148: 402–413.

Dashtipoor S, Sahebani N, Aminian H, 2018. Application effects of *Bacillus subtilis* and salicylic acid on the tomato plants against *Fusarium oxysporoum* f.sp. *lycopersici* and *Meloidogyne javanica*. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 6: 1–10. (In Persian with English abstract).

Dor E, Joel DM, Kapulnik Y, Koltai H, Hershenhorn J, 2011. The synthetic strigolactone GR24 influences the growth pattern of phytopathogenic fungi. *Planta* 234: 419–427.

Foo E, Blake SN, Fisher BJ, Smith JA, Reid JB, 2016. The role of strigolactones during plant interactions with the pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Planta* 243: 1387–1396.

Gerdemann J, 2020. The significance of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant nutrition. In:

Toussoun TA, Bega RV, Nelson PE, (eds). Root Diseases and Soil-borne Pathogens. University of California Press, Pp.125–129 .

Gouda S, Kerry RG, Das G, Paramithiotis S, Shin H-S, Patra JK, 2018. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiological Research* 206: 131–140.

Haplin BE, Lee CY, 1987. Effect of blanching on enzyme activity and quality changes in green peas. *Journal Food Science* 52: 1002–1005

Heflish AA, Abdelkhalek A, Al-Askar AA, Behiry SI, 2021. Protective and Curative Effects of *Trichoderma asperelloides* Ta41 on Tomato Root Rot Caused by *Rhizoctonia solani* Rs33. *Agronomy* 11: 116–124.

Hosseini S, Amini J, Saba M.K, Karimi K, Pertot I, 2020. Preharvest and Postharvest Application of Garlic and Rosemary Essential Oils for Controlling Anthracnose and Quality Assessment of Strawberry Fruit During Cold Storage. *Frontiers in Microbiology* 11:1–11

Kapoor D, Singh S, Kumar V, Romero R, Prasad R, Singh J, 2019. Antioxidant enzymes regulation in plants in reference to reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS). *Plant Genetics* 19: 100–112.

Kumar M, Sirhindi G, Bhardwaj R, Kumar S, Jain G, 2010. Effect of exogenous H 2O2 on antioxidant enzymes of *Brassica juncea* L. seedlings in relation to 24-epibrassinolide under chilling stress. *Indian Journal of Chemistry and Biophysic* 47: 378–382.

Mitra D, Djebaili R, Pellegrini M, Mahakur B, Sarker A; Chaudhary P, et al. 2021. Arbuscular mycorrhizal symbiosis: plant growth improvement and induction of resistance under stressful conditions. *Journal of Plant Nutrition* 44: 1993–2028.

Marzec M, 2016. Strigolactones as part of the plant defence system. *Trends in Plant Science* 21: 900–903.

Nawrocka J, Snochowska M, Gajewska E, Pietrowska E, Szczech M, Małolepsza U, 2011. Activation of defense responses in cucumber and tomato plants by selected polish *Trichoderma* strains. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 75: 105–116.

Nobori T, Tsuda k. (2019). The plant immune system in heterogeneous environments. *Current Opinion in Plant Biology* 50: 58–66.

Ojha S, Chatterjee NC, 2012. Induction of resistance in tomato plants against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* mediated through salicylic acid and *Trichoderma harzianum*. *Journal of plant Protection Research* 52: 121–131.

Paras N, Viani A, Arzanlou M, 2018. Evaluation of different tomato varieties cultivated In East-Azerbayjan province for resistance to the race 1 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 7: 77–89 (In Persian with English abstract).

Pineda-Martos R, Di Pietro A, Turrà D, 2021. Chemotropic Assay for Testing Fungal Response to Strigolactones and Strigolactone-Like Compounds. In: Prandi C, Cardinale F (eds). Strigolactones. Humana Press, New York. Pp. 105–111.

Putter J, 1974. Method of Enzymatic method analysis. 2th edition, Academic Press. 685 pp.

Sabbagh SK, Golestani M, Sarafaraz MR, Abbasi E, Taheri M, 2020. Spermidin phytohormone and induce resistance of two tolerant Termeh and sensitive Capitan cultivar of tomato against Fusarium wilting disease caused by Fusarium oxysporum fsp. Lycopersici. *Iranian Journal of Plant Protection Scienc*e 51: 297–313 (In Persian with English abstract).

Sabbagh S, Golestani M, Kazempour B, Sarafraz AM, Taheri M, 2021. Induced resistance againt Fusarium tomato wilting disease throught increase of antioxidant enzymes and pathogenesis–related genes using methyl jasmonat. *Applien Enthomology and Phytopathology* 88: 276–284 (In Persian with English abstract).

Sedaghat M, Tahmasebi-Sarvestani Z, Emam Y, Mokhtassi-Bidgoli A, 2017. Physiological and antioxidant responses of winter wheat cultivars to strigolactone and salicylic acid in drought. *Plant Physiology and Biochemistry* 119: 59–69.

Sharma BK, Singh R, Saha S, Kumar A, Rai A, 2011. Effect of temperature, pH and media on the growth and sporulation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causing wilt of tomato. *Progressive Horticulture* 43: 186–192.

Sharon E, Chet I, Spiegel Y, 2011. *Trichoderma* as a biological control agent. In. *Biological Control of Plant-Parasitic Nematodes:* Springer, 183–201.

Singh V K, Singh HB, Upadhyay RS. 2017. Role of fusaric acid in the development of 'Fusarium wilt' symptoms in tomato: Physiological, biochemical and proteomic perspectives. *Plant Physiol. Biochem* 118: 320–332.

Soto MJ, Fernández-Aparicio M, Castellanos-Morales V, 2010. First indications for the involvement of strigolactones on nodule formation in alfalfa (*Medicago sativa)*. *Soil Biology and Biochemistry* 42: 383–385.

Srinivas C, Devi DN, Murthy KN, 2019. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* causal agent of vascular wilt disease of tomato: Biology to diversity–A review. *Saudi Journal of Biological Sciences* 26:1315–1324.

Tchameni SN, Ngonkeu M, Begoude B, *et al.* 2011. Effect of *Trichoderma asperellum* and arbuscular mycorrhizal fungi on cacao growth and resistance against black pod disease. *Crop Protection* 30:1321–1327.

.

Temraz A, Tantawy WH. 2008. Characterization of antioxidant activity of extract from *Artemisia vulgaris. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 21: 321–326.

Teste FP, Jones MD, Dickie IA, 2020. Dual-mycorrhizal plants: their ecology and relevance. *New Phytologist* 225:1835–1851.

Torres-Vera R, García JM, Pozo MJ, López-Ráez JA, 2014. Do strigolactones contribute to plant defence? *Molecular Plant Pathology* 15: 211–216.

Zhou Y, Wang Y, Chen K, 2020. Near–complete genomes of two *Trichoderma* species: A resource for biological control of plant pathogens. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 33: 1036–1039.

Warwate S, Kandoliya U, Bhadja N, Golakiya B, 2017. The effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on biochemical parameters of coriander *(Coriandrum sativum* L.) seedling. *International Journal of Current Microbiology Applied Sciences* 6: 1935–1944.

This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)