Iranian Journal of Plant Protection Science
Vol 48, No 2, Autumn & Winter 2017-2018 (283-294)
DOI: 10.22059/ijpps.2017.225668.1006757

دانش گیاهپزشکی ایران
دورهٔ ۴۸، شمارهٔ ۲، پاییز و زمستان ۱۳۹۶ (ص ۲۹۴-۲۸۳)

القای مقاومت سیستمیک به نماتد ریشهٔ گرهی گوجه‌فرنگی با استفاده از اسید سالیسیلیک و دو عامل بیوکنترل

لیلا اصفهانی[۱]، سالار جمالی[۲*]، آیت‌الله سعیدی‌زاده[۳] و حسن پدرام‌فر[٤]

۱، ۲ و ٤. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار و مربی گروه گیاه‌پزشکی، دانشکدهٔ علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان

۳. استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه شاهد

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۲ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/٦/۲۰)

چکیده

به‌منظور بررسی اثر قارچ *Trichoderma viride*، باکتری *Pseudomonas fleurescens* CHA0 و اسید سالیسیلیک روی نماتد ریشهٔ گرهی (*M. incognita* race2) و تأثیر آن‌ها بر روند تولید آنزیم‌های دفاعی گوجه‌فرنگی، آزمونی در شرایط گلخانه به مرحلهٔ اجرا درآمد. جمعیت نماتد روی رقم حساس گوجه‌فرنگی روتگرز تکثیر و گیاهان مورد آزمون، در مرحلهٔ چهار برگی مایه‌زنی شدند. میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، فنیل‌آلانین آمونیالیاز و کاتالاز در روزهای اول، چهارم و هفتم پس از مایه‌زنی نماتد، اندازه‌گیری شد. نتایج بررسی‌ها نشان داد، کاربرد قارچ، باکتری و اسید سالیسیلیک، باعث افزایش مهار (کنترل) نماتد شد و کاهش قابل ملاحظه‌ای در شاخص‌های آلودگی مانند شمار گال و تودهٔ تخم رخ داد. به‌طوری‌که مایه‌زنی توأم گیاهان آلوده، در رقم‌های Gina VF، Falat CH، Falat 111 و Karoon به ترتیب موجب کاهش درصد شمار گال (۸۱، ٦۸، ۸۰ و ۸۳)، شمار کیسهٔ تخم (۸۷، ۷۸، ۸۳ و ۸۸) و عامل تولیدمثل (۸۳، ٦۹، ۸۲ و ۸٤) شد. بیشترین شمار گال به‌ترتیب در رقم‌های Karoon، Flat 111، Gina VF و Flat CH و بدون حضور عامل‌های مهارکننده مشاهده شد. هر سه عامل افزون بر کاهش شاخص‌های نماتد، به ترتیب باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی کاتالاز، پراکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز در گیاه شدند. این افزایش در چهارمین روز پس از مایه‌زنی، به بیشترین میزان خود رسید.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، *Meloidogyne incognita*، *Pseudomonas fluorescens*، *Trichoderma viride*.

Inducing systemic resistance of tomato by salicylic acid and two biocontrol agents against root- knot nematode

Leila Esfahani[1], Salar Jamali[2*], Ayat-ollah Saeedizadeh[3] and Hassan Pedramfar[4]

1, 2, 4. Former M.Sc. Student, Assistant Professor and Instructor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

3. Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Shahed University, P.O. Box: 33191-18651, Tehran, Iran

(Received: Jan. 21, 2017 - Accepted: Sep. 11, 2017)

ABSTRACT

To evaluate the effects of the fungus *Trichoderma viride*, the bacterium *Pseudomonas fleurescens* CHA0 and salicylic acid against root-knot nematode (*Meloidogyne incognita* race 2) on the defense enzyme production process of tomato, a pot experiment was conducted under greenhouse conditions. The nematode populations were reproduced on tomato Rutgers cultivar and the test plants were inoculated at four-leaf stage. The peroxidase, phenylalanine ammonia lyase and catalase activities were measured in the first, fourth and seventh days after nematode inoculation. The results showed that all three application modes of fungi, bacteria, and salicylic acid, increased nematode control and significant decreases occurred in the number of gall and egg mass. The infected plants inoculation with fungi, bacteria and salicylic acid, in the cultivars Gina VF, Falat CH, Falat 111 and Karoon reduced the percentage of gall (81, 68, 80, and 83), the number of egg mass (87, 78, 83, and 88) and reproductive factors (83, 69, 82, and 84), respectively. The highest numbers of galls were observed in Karoon, Flat 111, Gina VF and Flat CH in the absence of control agents, respectively. The three agents not only reduced the amount of disease but also increased the activity of catalase peroxidase, and phenylalanine ammonia lyase enzymes in plants, respectively. The enzymes activity reached a maximum on the 4th day after inoculation.

Keywords: Meloidogyne incognita, Peroxidase, Pseudomonas fluorescens, Trichoderma viride.

* Corresponding author E-mail: jamali@guilan.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

نماتدهای ریشهٔ گرهی یکی از مهم‌ترین نماتدهای انگل گیاهی از نظر میزان خسارت وارده به محصولات کشاورزی هستند که از همهٔ نواحی جهان و روی بسیاری از گونه‌های زراعی و علف‌های هرز گزارش شده‌اند (Perry *et al*., 2010). دامنهٔ میزبانی گسترده، چرخهٔ زندگی کوتاه، تولیدمثل زیاد و انگل داخلی بودن، مهار و مدیریت (کنترل) آن‌ها را دشوار ساخته است (Trudgill & Blok, 2001). به همین علت در سال‌های گذشته، راهکارهای جدید برای مهار و مدیریت آن‌ها مطرح و تحقیقات چندی روی مهار زیستی (بیوکنترل)، تأثیر مواد آلی و غیر آلی، نماتدکش‌های طبیعی و القای مقاومت صورت پذیرفته است (Oka *et al*., 2000). دفاع بیوشیمیایی یکی از جنبه‌های مهم واکنش‌های دفاعی در گیاهان به شمار می‌آید. افزون بر تأثیر بیمارگرها، عامل‌های مهار زیستی نیز موجب تحریک سامانهٔ دفاعی و افزایش فعالیت آنزیم‌ها می‌شوند (Steiner & Schoneck, 1995). مقاومت سیستمیک (فراگیر) القایی ناشی از ترکیب‌های شیمیایی و برخی از میکروارگانیسم‌ها (ریزجانداران)، از جمله این موارد هستند. پاسخ گیاهان در برابر آلودگی، در واقع تغییر در واکنش‌های بیوشیمیایی و تولید ترکیب‌های دفاعی مانند فیتوالکسین‌ها، ترکیب‌های فنلی و آنزیم‌های چندی است که منجر به بروز مقاومت می‌شود (Bera & Purkayastha, 1999). اسید سالیسیلیک از جمله القاگرهای شیمیایی است که علیه بیمارگرهای گیاهی تولید مقاومت سیستمیک می‌کند. این ترکیب یک مولکول سیگنال‌دهندهٔ طبیعی با ماهیت فنلی در بسیاری از گیاهان بوده و تحریک واکنش‌های دفاعی را در پی دارد (Prithiviraj *et al*., 2005). القای مقاومت در میزبان توسط گونه‌های مختلف قارچ *Trichoderma*گزارش شده است (Howell, 2003). تأثیر باکتری *Pseudomonas fluorescens* در مهار نماتد ریشهٔ گرهی فلفل (*Capsicum annum*) مثبت ارزیابی شده است (Thiyagarajan & Kuppusamy, 2014). از سازوکارهای تأثیر باکتری *P. fluorescens* روی نماتد ریشهٔ گرهی می‌توان به ایجاد متابولیت‌های کاهش تفریخ تخم، کاهش ترشحات ریشه و ایجاد مقاومت سیستمیک یا ISR در گیاه اشاره کرد (Sikora & Hoffmann-Hergarten, 1993). تحریکات ایجادشده توسط این ریزوباکتری‌ها باعث تجمع فیتوالکسین‌ها، تولید ترکیب‌های فنلی و افزایش آنزیم‌های دفاعی از جمله فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL)، پراکسیداز (POX) و بالارفتن سطح لیگنین در گیاه می‌شود (Mpiga *et al*., 1997). قابلیت القای مقاومت در باکتری *P. fluorescens* CHA0 تا حدی است که اگر یک‌سوی گیاه با سوسپانسیون (دروایه) باکتری مایه‌زنی شود، مقاومت در کل گیاه القاء شده و آلودگی کاهش می‌یابد (Siddiqui & Shaukat, 2003). مهم‌ترین برتری عامل‌های مهار زیستی دارای سازوکار القای مقاومت در این است که موارد دیگر تنها در حضور آنتاگونیست (ناهمساز) فعال رخ می‌دهد، درحالی‌که در این نوع حفاظت، هنگامی جمعیت آنتاگونیست در خاک به آستانهٔ مورد نظر رسید، مقاومت گیاه میزبان القاء می‌شود. البته پس از کاهش جمعیت آنتاگونیست، مقاومت ایجادشده می‌تواند دوام درازمدت داشته باشد (Van Loon *et al*., 1998). نتایج تحقیق Sahebani *et al.* (2006) نشان داد، قارچ *T. viride* می‌تواند پس از حملهٔ نماتد به گیاه، میزان بیماری و میانگین شمار تودهٔ تخم به ازای هر گیاه را کاهش دهد. Naseri Nasab *et al.* (2012) در نتایج بررسی‌های خود گزارش کردند، استفادهٔ همزمان قارچ آنتاگونیست (غلظت مؤثر $۱۰^{۶}$ *T. harzianum*) به همراه محرک شیمیایی سالیسیلیک اسید با غلظت ۵ میلی‌مولار، میزان بیماری ناشی از *Meloidogyne javanica* را در شرایط گلخانه، به‌طور معنی‌داری کاهش داد. در نتایج آزمایش دیگر مشخص شد که باکتری *P. fluorescens* سویهٔ (استرین) CHA0 می‌تواند با القای مقاومت در گیاه، باعث کاهش آلودگی نسبت به *M. javanica* شود (Mokhtari *et al*., 2009).

باوجود تحقیقات مختلف در این زمینه، تاکنون تأثیر تلفیقی سه عامل قارچ، باکتری و القاءکنندهٔ شیمیایی در مهار نماتد ریشهٔ گرهی بررسی نشده است. در این بررسی، اسید سالیسیلیک به‌عنوان

Archive of SID

www.SID.ir

القاءکنندهٔ شیمیایی، قارچ *Trichoderma viride* و باکتری *Pseudomonas fluorescens* (CHA0)، به‌عنوان عامل مهارکنندهٔ زیستی استفاده شد تا تأثیر مهارکنندگی آن‌ها در تحریک سامانهٔ دفاعی گیاه در مقابل نماتد ریشهٔ گرهی *M. incognita* race 2 در گوجه‌فرنگی بررسی شود.

مواد و روش‌ها

تهیهٔ زادمایهٔ نماتد

در بازدیدهایی از گلخانه‌های کشت گوجه‌فرنگی استان گیلان، از یکی از گلخانه‌های آلوده به نماتد ریشهٔ گرهی از ریشه‌های آلوده نمونه‌برداری صورت گرفت. پس از شستشوی ریشه‌ها با استفاده از روش تک کیسهٔ تخم، تکثیر نماتد روی نشاء گوجه‌فرنگی رقم روتگرز، در سطح گلخانه انجام شد. پس از تشکیل گال روی ریشه و تکثیر نماتد، شناسایی گونه انجام شد. تشخیص با استفاده از برش انتهای بدن نماتد ماده و بنا بر روش پیشنهادی Taylor & Netscher (1974) و Jepson (1987) صورت گرفت. تعیین نژاد از آزمون میزبان‌های افتراقی و بر پایهٔ روش پیشنهادی Barker *et al.* (1985) انجام شد. رقم‌های میزبان‌های مورد استفاده در این زمینه، پنبه: Deltapine 61؛ توتون: NC 95؛ فلفل: Early California Wonder؛ هندوانه: Charleston Gray؛ بادام‌زمینی: Florunner و گوجه‌فرنگی: Rutgers بودند. برای به دست آوردن جمعیت انبوه و خالص نماتد، برای چندین دورهٔ متوالی، تکثیر روی گوجه‌فرنگی رقم روتگرز اجرا شد. استخراج زادمایه، بر پایهٔ روش هوسی و بارکر عمل شد (Hussey and Barker, 1973). در نهایت لاروهای سن دوم استحصال‌شده توسط پتری مدرج شمارش شد.

عامل‌های القای مقاومت

جدایهٔ *Trichoderma viride* از کلکسیون آزمایشگاه بیماری‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه شاهد تهران به‌صورت خالص تهیه و پس از تک اسپور کردن، روی محیط PDA (Potato Dextrose Agar) تکثیر شد. پس از تهیهٔ سوسپانسیون اسپور در آب مقطر با استفاده از لام همی‌سیتومتر غلظت مؤثر 10^6 اسپور در میلی‌لیتر قارچ تهیه شد (Sahebani & Hadavi, 2008).

جدایهٔ (ایزولهٔ) *Pseudomonas fleurescense* CHA0 از کلکسیون آزمایشگاه بیماری‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه شاهد تهران تهیه شد. برای تهیهٔ سوسپانسیون باکتری با غلظت مورد نظر در این بررسی (10^9 cfu/ml) از طول‌موج ۵۹۰ nm و OD=۰/۶ استفاده شد (Thompson, 1996). همچنین در این تحقیق، از اسید سالیسیلیک (SA) ساخت شرکت Merck با غلظت ۵ میلی مول استفاده شد (Zhang *et al*., 2002).

مایه‌زنی گیاهچه‌ها

در آغاز بذرهای گوجه‌فرنگی مورد آزمون در گلدان‌های ۱ کیلوگرمی حاوی خاک استریل (سترون‌شده) شامل خاک، ماسه، کود برگ (۱:۱:۱) و مقداری پیت پرلیت کشت شد. مایه‌زنی هر گیاهچه، در مرحلهٔ چهار تا شش برگی توسط سوسپانسیون اسپور *T. viride* با غلظت 10^6 اسپور در میلی‌لیتر به میزان ۲۰ میلی‌لیتر به ازای هر گیاهچه و باکتری *Pseudomonas fleurescense* CHA0 به میزان ۳۰ میلی‌لیتر به ازای هر گیاهچه صورت گرفت. هر دو عامل به روش خیساندن خاک و غلظت ۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به روش پاشیدن روی برگ‌ها اجرا شد. تیمارها ۴۸ ساعت بعد، با ۲۰۰۰ لارو فعال سن دوم نماتد مایه‌زنی شدند. گیاهان به مدت ۴۵ روز در شرایط مساعد گلخانه (۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲۶-۲۸ درجهٔ سلسیوس) نگهداری شدند. پس از آن برای سنجش شمار گال، شمار تودهٔ تخم به ازای هر گیاه، شمار لارو سن دوم و عامل تولیدمثل به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از خارج کردن ریشه‌ها از گلدان، نماتدهای موجود در خاک با استفاده از روش سینی و با گذشت زمان ۴۸ ساعت استخراج شدند. جمعیت استحصالی به پتری مدرج منتقل و در زیر بینوکولر شمارش شد. بنابر رابطهٔ Oostenbrink (1966)، محاسبهٔ عامل تولیدمثل برای هرکدام از تیمارها بنابر رابطهٔ R= PF/ PI صورت گرفت که در آن PI جمعیت اولیه و PF جمعیت نهایی

Archive of SID

www.SID.ir

است. آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دوازده تیمار، چهار رقم و چهار تکرار در دو سال انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل ۱- شاهد (مایه‌زنی شده با آب مقطر استریل‌شده) non-inoculated (negative control)، ۲- نماتد تنها Nematode: N (positive control)، ۳- قارچ (T: *Trichoderma viride*)، ۴- اسید سالیسیلیک (SA: salicylic acid)، ۵- باکتری (P: *Pseudomonas fluorescens* CHA0)، ۶- نماتد همراه با قارچ: N+T، ۷- نماتد همراه با اسید سالیسیلیک: N+SA، ۸- نماتد همراه با باکتری: N+P ، ۹- نماتد همراه با قارچ + اسید سالیسیلیک: N+T+SA، ۱۰- نماتد همراه با باکتری و اسید سالیسیلیک :N+P+ SA ۱۱- نماتد همراه با قارچ و باکتری: N+ T + P، ۱۲- نماتد همراه با قارچ، باکتری و اسید سالیسیلیک : N+ T + P +SA بودند.

برای اندازه‌گیری میزان آنزیم‌ها، گیاهچه‌ها در مرحلهٔ چهار تا شش برگی توسط ۲۰۰۰ لارو سن دوم نماتد و غلظت‌های 10^{6} در میلی‌لیتر از قارچ *T. viride* و ۵ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و 10^{9}cfu/ml باکتری *P. fleurescense* CHA0 به روش بالا مایه‌زنی شدند. این آزمون در قالب طرح کامل تصادفی به‌صورت کرت‌های دو بار خردشده (اسپیلت اسپیلت پلات) با ترکیب تیمار اشاره‌شده در بالا اجرا شد. این آزمون شامل دوازده تیمار، چهار رقم ،چهار تکرار و سه زمان نمونه‌برداری در زمان‌های ۱، ۴ و ۷ روز پس از مایه‌زنی (در دو سال) انجام و میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) و کاتالاز بررسی شد.

ارزیابی میزان فعالیت آنزیم‌ها

۰/۵ گرم از بافت گیاهی ریشه، در هاون چینی با استفاده از نیتروژن مایع کوبیده و له شد. سپس ۱ میلی‌لیتر بافر نمونه فسفات سدیم ۰/۱ مول با PH ۶ به آن اضافه و کامل مخلوط شد. مخلوط به‌دست‌آمده بی‌درنگ به ریزلوله (میکروتیوب)های ۲ میلی‌لیتری منتقل و توسط میکروسانتریفوژ در ۱۳۰۰۰ rpm به مدت ۲۰ دقیقه در ۴ درجهٔ سلسیوس سانتریفوژ شد. مایع رویی برای انجام آزمایش جدا و در دمای ۲۰- درجهٔ سلسیوس نگهداری شد (Reuveni, 1995). ارزیابی آنزیم پراکسیداز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (طیف‌سنج نوری) به‌صورت زیر انجام شد:

۲ میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل ۲۰۰ میکرولیتر عصارهٔ گیاهی، ۲۰ میکرولیتر گوئیکول و میزان کافی بافر سیترات فسفات ۲۵ میلی مول pH 5.4 تا به حجم نهایی ۲ میلی‌لیتر برسد، در یک لولهٔ آزمایش ریخته و دستگاه اسپکتروفتومتر با استفاده از آن در طول‌موج ۴۷۵ نانومتر ۰ شد. سپس ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد به این مخلوط اضافه شد و به‌سرعت تغییرات جذب نور به فاصله‌های ده ثانیه، به مدت یک دقیقه اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت آنزیم برحسب تغییرات جذب نور بر دقیقه بر میلی‌گرم عصاره بیان شد (Reuveni, 1995). برای ارزیابی میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL)، ۲ میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل ۱۸۰۰ میکرولیتر محلول بافر تریس اسیدی (Tris-HCl) ۰/۵ مول با pH 6.8 و فنیل‌آلانین ۶ میکرومول که به آن ۲۰۰ میکرولیتر عصارهٔ گیاهی اضافه شده بود، تهیه شد. این مخلوط به مدت ۷۰ دقیقه در حمام آب گرم ۳۷ درجهٔ سلسیوس تیمار شد. پس از پایان زمان قیدشده با افزودن ۵۰ میکرولیتر اسیدکلریدریک ۵ نرمال به هر لوله، واکنش متوقف شد. میزان جذب نور برای هر لوله توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در λmax=290nm اندازه‌گیری شد. برای هر تیمار چهار تکرار در نظر گرفته شد (Chen *et al*., 2000). برای رسم منحنی استاندارد PAL از مادهٔ خالص استاندارد ترانس سینامیک اسید استفاده شد. غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۷، ۱، ۲، ۷ و ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر از این ماده در بافر تریس بدون فنیل‌آلانین تهیه شد. حجم محلول هر لوله با افزودن تریس اسیدی به ۲ میلی‌لیتر رسانده شد. میزان جذب نور در هر لوله، در طول‌موج λmax= 290nm اندازه‌گیری شد. برای هر غلظت سه تکرار در نظر گرفته شد. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز بر پایهٔ روش چنس و مهلی انجام شد (Chance & Maehly, 1955). تغییرات جذب محلول واکنش نسبت به شاهد در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری

Archive of SID

www.SID.ir

شد. فعالیت آنزیم بر پایهٔ میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین بیان می‌شود. داده‌های به‌دست‌آمده، در آغاز توسط نرم‌افزار SAS تجزیهٔ واریانس شده و سپس مقایسهٔ میانگین‌ها توسط آزمون توکی در سطح ($P\leq۰/۰۱$) و ($P\leq۰/۰۵$) صورت گرفت.

نتایج و بحث

نماتد ریشهٔ گرهی جداسازی‌شده در آزمون میزبان‌های افتراقی روی ریشه‌های پنبه و بادام‌زمینی تولید غده نکرد، درحالی‌که روی توتون، فلفل، هندوانه و گوجه‌فرنگی قادر به تکمیل زندگی خود بود. بر پایهٔ ویژگی‌های ریخت‌شناختی و ریخت‌سنجی ماده‌ها و لاروهای سن دوم و انطباق واکنش میزبان‌های افتراقی، گونه و نژاد جمعیت مورد بررسی، *M. incognita* race 2 تشخیص داده شد (Barker *et al*., 1985).

در هر چهار رقم مورد بررسی، همهٔ تیمارهای ترکیبی، سبب کاهش شمار گال نسبت به شاهد (گیاه مایه‌زنی‌شده با نماتد به‌تنهایی) شد. بیشترین و کمترین شمار گال به‌ترتیب در تیمار دوم (N) و در تیمار ۱۲ (N+P+T+SA) رقم Karoon به ثبت رسید. در همهٔ رقم‌ها، بیشترین شمار گال پس از شاهد (N) در تیمار هفت (N+SA) شمارش شد. تیمار هشت (N+P) نسبت به تیمار هفت (N+SA) و شش (N+T) اثر بیشتری در کاهش میانگین شمار گال داشت. به‌عبارت‌دیگر کاربرد باکتری به‌تنهایی در مهار نماتد مؤثرتر از اسید سالیسیلیک و قارچ بود. در بین رقم‌های مورد بررسی، بیشترین شمار گال به‌ترتیب در رقم‌های Gina VF، Falat CH، Karoon و Falat 111 مشاهده شد. تیمار تلفیقی ۱۲ (N+P+T+SA) بیشترین تأثیر را در کاهش شمار گال داشت و پس از آن این تأثیر در تیمار ۱۱ (N+P+T) بیشترین نمود را یافت. در تیمار ۱۲ بیشترین شمار گال به‌ترتیب در رقم‌های Falat CH، Gina VF، Falat 111 و Karoon مشاهده شد. تیمارهای اعمال‌شده سبب کاهش میانگین شمار تودهٔ تخم، به‌طور معنی‌دار در مقایسه با شاهد شدند. تیمار ۱۲ (N+P+T+SA) بیشترین کاهش را در میزان تودهٔ تخم نشان داد. بیشترین و کمترین شمار تودهٔ تخم به‌ترتیب متعلق به تیمار دو (N) رقم Gina VF و تیمار ۱۲ (N+P+T+SA) رقم Karoon بود (جدول ۱). با توجه به معنی‌دار بودن اثر متقابل تیمارها و رقم‌ها در عامل تولیدمثل، مقایسهٔ میانگین بین تیمارهای مورد آزمون انجام گرفت و بیشترین و کمترین میزان این عامل برای هر تیمار در هر یک از رقم‌ها مشخص شد. نتایج به‌دست‌آمده از آزمایش نشان داد، کمترین و بیشترین عامل تولیدمثل به ترتیب در تیمار دو (N) رقم Karoon و در تیمار ۱۲ (N+P+T+SA) رقم Gina VF به ثبت رسید (جدول ۱). رقم‌های Gina VF و Falat 111 در مقایسه با Falat CH و Karoon به‌عنوان رقم‌های متحمل معرفی شده بودند (Gharabadiyan *et al*., 2012). اما در این بررسی، اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین آن‌ها مشاهده نشد.

بین تیمار دو (N) و دیگر تیمارها در هر چهار رقم از لحاظ آماری در سطح ۱ درصد اختلاف معنی‌داری وجود داشت. باوجوداینکه بین تیمار اسیدسالیسیلیک و تیمار بدون آن، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، اما تیمار ترکیبی (N+P+T+SA) در هر چهار رقم، بیشترین تأثیر را در کاهش عامل تولیدمثل داشت. همچنین بین تأثیر عامل‌های به‌تنهایی، تیمار نماتد و باکتری بیشترین تأثیر را در کاهش عامل تولیدمثل داشت. پس از آن به‌ترتیب قارچ و اسید سالیسیلیک قرار گرفتند (جدول ۱). به نظر می‌رسد یکی از دلایل چنین توانایی، سازگاری بیشتر باکتری با ریزوسفر (فراریشه) و استقرار بهتر آن در محیط باشد. مقاومت سیستمیک ایجادشده در ریشه‌های گوجه‌فرنگی در اثر *P. fluorescens* CHA0 به‌نوعی متابولیت ثانویه (2, 4-diacetylphoroglucinol) نسبت داده شده است (Siddiqui and Shaukat, 2003). درحالی‌که پرگنه (کلونیزه) شدن سطح ریشهٔ گیاه توسط *Trichoderma* می‌تواند با کاهش حملهٔ مستقیم عامل بیماری‌زا در ارتباط باشد (Kloepper *et al*., 1992). به‌طورکلی نتایج به‌دست‌آمده از آزمون اول نشان داد، درزمینهٔ صفات رشدی گیاه، رقم Gina VF بیشترین وزن تر ریشه، وزن تر اندام‌های هوایی و طول و وزن خشک اندام‌های هوایی را به خود اختصاص داده است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱. تأثیر اسید سالیسیلیک، *Pseudomonas fleurescens* CHA0 و *Trichoderma viride* در شاخص‌های نماتد *Meloidogyne incognita* race2 در رقم‌های مختلف گوجه‌فرنگی. T_2: N، T_6: N+T، T_7: N+SA، T_8: N+P، T_9: N+T+SA، T_{10}: N+P+SA، T_{11}: N+P+T، T_{12}: N+P+T+SA. (N: نماتد، T: قارچ *Trichoderma viride*، SA: اسید سالیسیلیک، P: باکتری *Pseudomonas fluorescens*). هر عدد میانگین چهار تکرار در دو سال است.

Table 1. Effect of salicylic acid, *Pseudomonas fluorescens* CHA0 and *Trichoderma viride* on nematode indices of *Meloidogyne incognita* race 2 on different tomato cultivars. T_2: N, T_6: N+T, T_7: N+SA, T_8: N+P, T_9: N+T+SA, T_{10}: N+P+SA, T_{11}: N+P+T, T_{12}: N+P+T+SA. (N: Nematode, T: *Trichoderma viride*, SA: Salicylic acid, P: *Pseudomonas fluorescens*). Each number is mean of four replications in two years

Tomato cultivar	Treatments	No. galls/plant	No. egg masses/plant	Final Population	Reproduction Factor
Gina VF	T_2	103.5 a	180 a	18257 a	9.1 a
	T_6	54 c	73 b	9501 b	4.7 b
	T_7	60 b	74 b	10557 b	5.2 b
	T_8	50 d	63 c	8550 bc	4.2 bc
	T_9	41 e	54 d	5986 cd	2.9 cd
	T_{10}	29.5 f	40 e	5193 d	2.5 d
	T_{11}	19.5 g	31 f	3433 d	1.7 d
	T_{12}	18.7 g	23 g	3167 d	1.5 d
Falat CH	T_2	92 a	141 a	17600 a	8.8 a
	T_6	48 c	58.5 b	9214 bc	4.6 bc
	T_7	57 b	62 b	10943 b	5.4 b
	T_8	42 d	53 c	8020 cd	4.0 cd
	T_9	39 e	52 c	7449 cde	3.7 cde
	T_{10}	35 f	42 d	6685 de	3.3 de
	T_{11}	33 f	35 e	6303 de	3.1 de
	T_{12}	29 g	30 f	5539 e	2.7 e
Falat 111	T_2	107 a	130 a	24535 a	12.2 a
	T_6	53 c	59 c	11667 b	5.8 b
	T_7	60 b	78 b	13205 b	6.6 b
	T_8	41 d	45 d	9025 c	4.5 c
	T_9	34 e	38 e	7478 cd	3.7 cd
	T_{10}	26 f	31 f	5725 de	2.8 de
	T_{11}	23 g	29 f	5067 e	2.5 e
	T_{12}	20 h	21 g	4405 e	2.2 e
Karoon	T_2	109 a	156 a	26507 a	13.2 a
	T_6	50 c	53 c	12012 bc	6.0 bc
	T_7	54 b	61 b	12967 b	6.4 b
	T_8	42 d	43 d	10077 cd	5.0 cd
	T_9	41 d	41 d	9834 cd	4.9 cd
	T_{10}	32 e	35 e	7687 ed	3.8 ed
	T_{11}	26 f	29 f	6245 ef	3.1 ef
	T_{12}	18 g	18 g	4327 f	2.1 f

میانگین‌های دارای حرف‌های مختلف در هر ستون، تفاوت معنی‌دار نشان می‌دهند ($P\leq$۰/۰۱).

Means followed by different letters in each column show significant difference ($P\leq0.01$).

توجه توأم به شاخص‌های آلودگی نماتد نیز، این رقم را با کم‌ترین میزان حساسیت در بین رقم‌های مورد بررسی نشان داد. همچنین کمترین وزن تر ریشه، وزن تر اندام‌های هوایی، طول اندام‌های هوایی، وزن خشک ریشه و بیشترین شاخص‌های آلودگی نماتد در رقم Karoon مشاهده شد. این رقم در بین رقم‌های مورد بررسی، به‌عنوان حساس‌ترین رقم در نظر گرفته شده است. رقم‌های Falat CH و Falat 111 نیز بین این دو قرار گرفته‌اند. رقم Falat 111 شمار گال بیشتر و عامل تولیدمثلی بالاتری نسبت به رقم Falat CH داشته، ولی صفات رشدی آن کمتر از رقم Falat CH تحت تأثیر نماتد قرار گرفته است (Esfahani *et al*., 2016).

از نتایج به‌دست‌آمده در آزمایش مربوط به میزان تجمع آنزیم‌ها، این‌گونه استنباط می‌شود که نماتد نیز به‌تنهایی قادر به افزایش فعالیت آنزیم‌ها در

Archive of SID

www.SID.ir

گوجه‌فرنگی است. گیاهان تیمارشده با سه عامل القاءکننده در حضور نماتد (N+T+SA+P)، بیشترین تأثیر را در افزایش پراکسیداز، کاتالاز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز داشتند. همچنین مقادیر آنزیم‌ها تولیدی در گیاهان تیمارشده با عامل‌های القاءکننده نسبت به تیمار نماتد (N) و شاهد بیشتر بود (شکل ۱). تیمار (N+P+SA)، افزایش بیشتری در تجمع آنزیم‌های مورد بررسی نسبت به تیمارهای (N+P+T) و (N+T+SA) نشان داد. کمترین میزان هر سه آنزیم مورد بررسی در گیاهان شاهد مشاهده شد که حتی کمتر از گیاهان تلقیح‌شده با نماتد بود. تیمار با اسید سالیسیلیک، تأثیر قابل توجهی در افزایش آنزیم پراکسیداز داشت، درصورتی‌که در گیاهان تیمارشده با N+SA+P، فعالیت‌های کاتالاز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز افزایش یافت. در بررسی میزان پراکسیداز در گیاهان بدون نماتد، تیمارهای چهارم (SA) و پنجم (P) تفاوت معنی‌دار داشته و القای آنزیم پراکسیداز در آن‌ها بیشتر از تیمار سوم (T) بود (شکل ۱). در بررسی آنزیم‌های کاتالاز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز تیمارهای چهارم و پنجم (SA و P) تفاوت معنی‌داری باهم نداشتند، اما تأثیر آن‌ها بیشتر از تیمار سوم (T) بود. در نخستین روز پس از تلقیح، در تیمار نماتد (N)، با شاهد تفاوت معنی‌داری در القای آنزیم پراکسیداز دیده نشد اما در چهار و هفت روز پس از تلقیح، القای آنزیم پراکسیداز به میزان قابل توجهی زیاد شد. بین تیمارهای بدون نماتد و تیمارهای نماتد با همراه یک عامل القاءکننده، تیمار اسید سالیسیلیک بیشترین تأثیر در القای آنزیم پراکسیداز را داشت. بیشترین میزان آنزیم‌های مورد بررسی در روز چهارم پس از تلقیح به ثبت رسید. در بررسی آنزیم پراکسیداز، نتایج به‌دست‌آمده از مقایسهٔ میانگین داده‌های اثر متقابل تیمار در زمان نمونه‌برداری نشان داد که تیمار ۱۲ (N+P+T+SA) دارای بیشترین و شاهد کمترین میانگین را دارد. تیمار نماتد به‌تنهایی، در گروه متمایز آماری قرار گرفت. نتایج کلی گویای آن است که بیشترین میزان فعالیت آنزیم در همهٔ تیمارها، در روز چهارم به ثبت رسید و از روز چهارم به بعد به‌تدریج کاهش یافت (شکل‌های ۱ و ۲). نتایج به‌دست‌آمده از جدول تجزیهٔ واریانس نشان داد، از نظر تولید میزان آنزیم پراکسیداز، در بین رقم‌های تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. از نقش‌های فیزیولوژیکی پراکسیدازها، می‌توان به تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن، اکسایشی (اکسیداسیون) فنل‌ها، اتصال‌های عرضی پلی ساکاریدها، استحکام دیوارهٔ آوند چوبی، ساخت (سنتز) فیتوالکسین‌ها و تجمع ترکیب‌های فنلی، محدود کردن گسترش بیمارگر و تولید لیگنین اشاره کرد (Deepaka *et al.*, 2007). پراکسیدازها در ترکیب‌های ساختاری دیوارهٔ سلولی و پلیمریزاسیون (بسپارزایی) لیگنین نقش دارند و موجب سخت شدن دیوارهٔ سلولی می‌شوند (Taheri & Tarighi, 2010). نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق با نتایج بررسی Chen *et al.* (2000) درزمینهٔ افزایش آنزیم پراکسیداز در ریشه‌های خیار، پس از مایه‌زنی با باکتری سودوموناس علیه قارچ *Pythium aphanidermatum* همخوانی دارد.

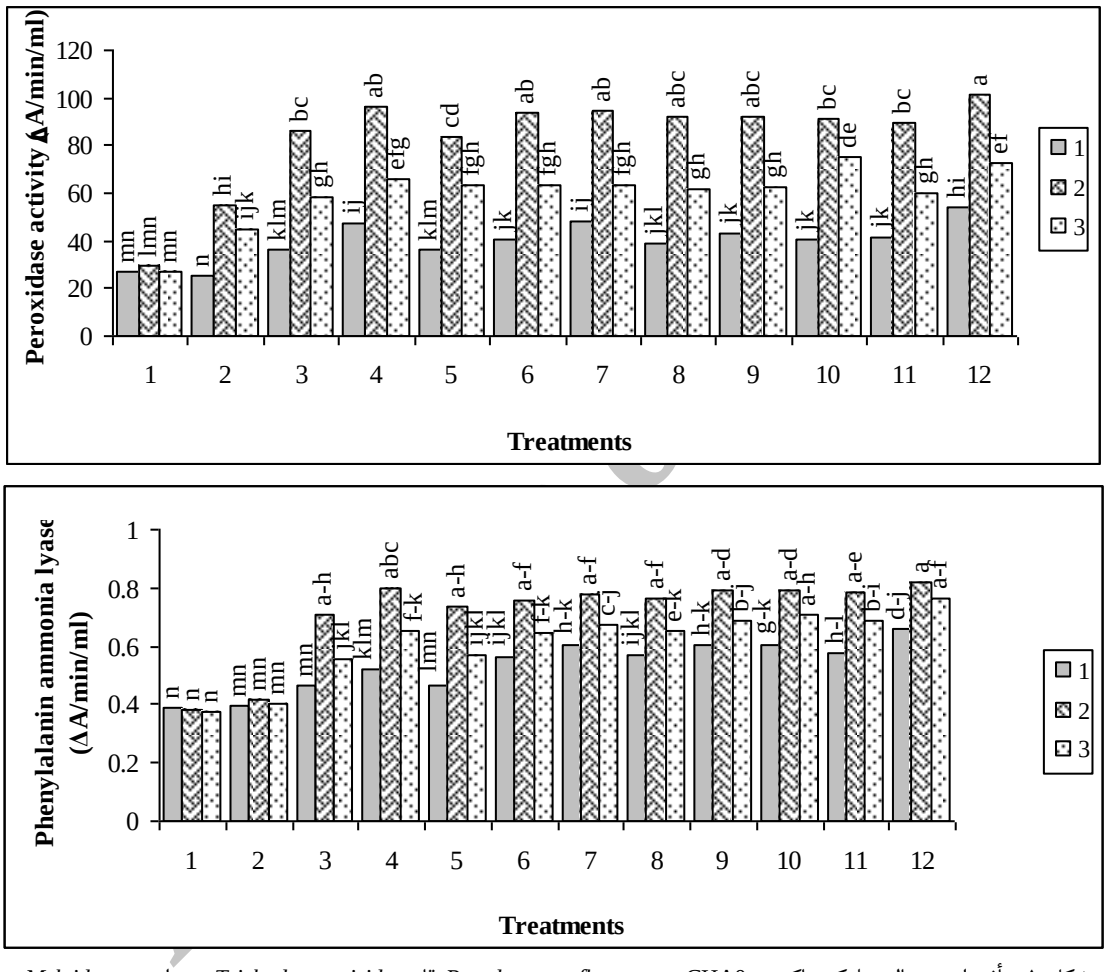
نتایج به‌دست‌آمده از جدول تجزیهٔ واریانس نشان داد، از نظر تولید میزان آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز در بین رقم‌های تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. در بین سه عامل القاءکننده، تیمار چهارم (SA) نسبت به تیمار سوم (T) و پنجم (P) بیشترین افزایش آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز را داشته است. در تیمارهای شش (N+T)، هفت (N+SA) و هشت (N+P)، میزان آنزیم تولیدشده در تیمار هفت بیشتر از دو تیمار دیگر بود (شکل ۱).

نتایج مقایسهٔ میانگین داده‌های اثر متقابل رقم در تیمارهای مختلف در زمان نمونه‌برداری آنزیم کاتالاز نشان داد بیشترین میزان آنزیم در همهٔ رقم‌ها، در تیمار ۱۲ (N+P+T+SA) و در زمان نمونه‌برداری دوم تولید شده است. بیشترین فعالیت آنزیم در روز چهارم مشاهده شد و پس از آن، این شاخص روند کاهشی نشان داد. این افزایش در رقم Gina VF بیشتر به چشم می‌خورد. بیشترین میزان این آنزیم در زمان دوم نمونه‌برداری و کمترین آن در زمان اول نمونه‌برداری ثبت شد (شکل‌های ۱ و ۲ A-D). در رقم Gina VF و Falat 111، تیمار دو (نماتد) و سه (T) در آنزیم کاتالاز در روز اول، تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان ندادند، ولی در روز چهارم، هر دو باعث افزایش

Archive of SID

www.SID.ir

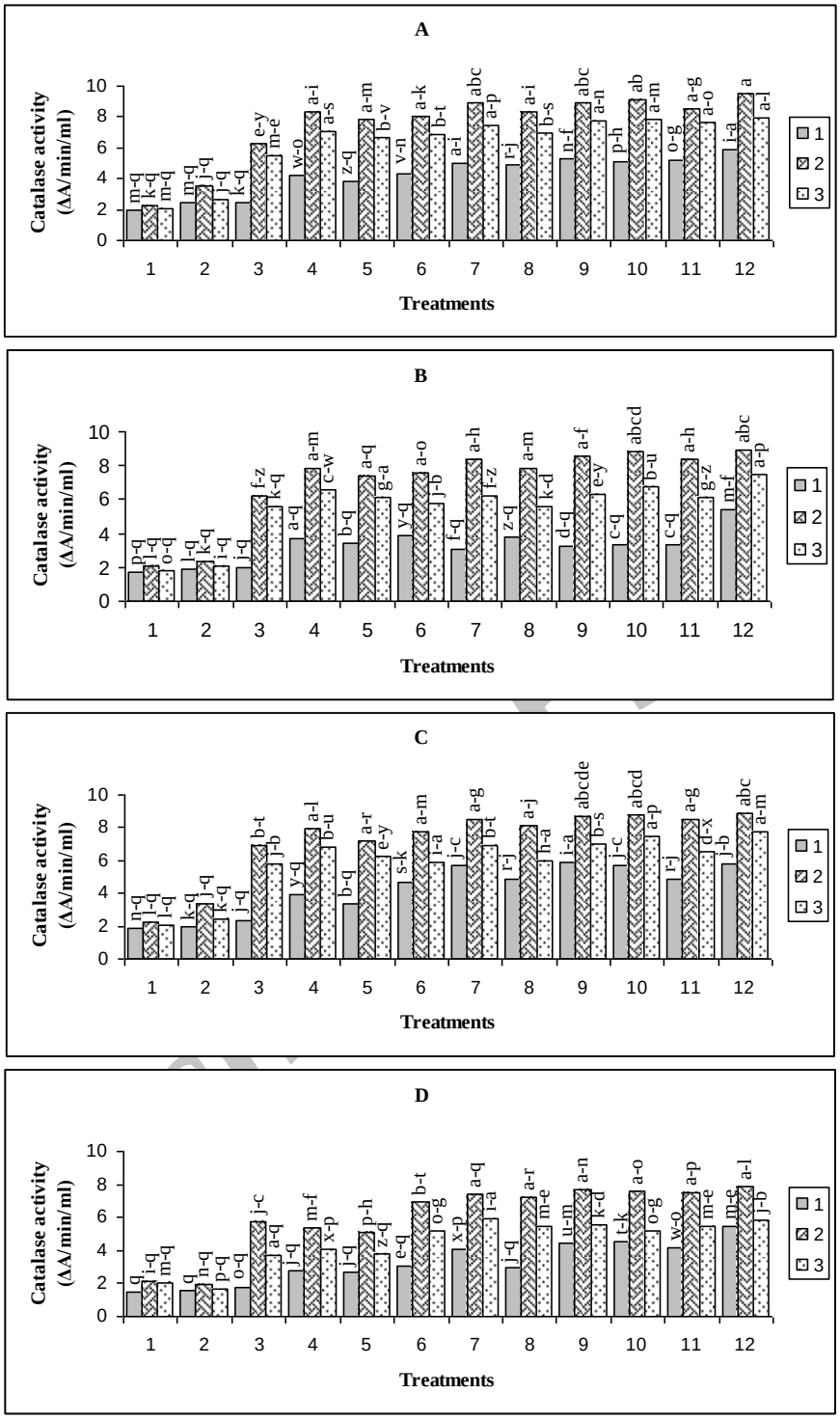
قابل توجهی در میزان آنزیم کاتالاز شدند. در روز هفتم، میزان آنزیم کاهش یافت (شکل ۱-A و شکل ۲-C). در رقم Falat CH، تیمار سه (T) تنها در نخستین روز پس از مایه‌زنی و تیمار دو (نماتد) در هر سه زمان نمونه‌برداری، با شاهد اختلاف معنی‌دار نداشتند (شکل ۲-B). در رقم Karoon افزون بر تیمار نماتد، تیمارهای سه (T)، چهار (SA) و پنج (P)، در نخستین روز پس از مایه‌زنی تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان ندادند و در چهارمین روز پس از مایه‌زنی، میزان آنزیم در آن‌ها (به‌غیراز تیمار نماتد) افزایش یافت و با شاهد اختلاف معنی‌دار یافت. در هفتمین روز پس از مایه‌زنی، کاهش میزان آنزیم در تیمارهای دو (نماتد) و سه (T) دیده شد و البته تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشتند (شکل ۲-D).



شکل ۱. تأثیر اسید سالیسیلیک، باکتری *Pseudomonas fleurescens* CHA0، قارچ *Trichoderma viride* در برابر *Meloidogyne incognita* race2 بر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، فنیل‌آلانین آمونیالیاز و کاتالاز در رقم‌های مختلف گوجه‌فرنگی در سه زمان نمونه‌برداری (۱: یک، ۲: چهار و ۳: هفت روز پس از مایه‌زنی). هر میزان میانگین چهار تکرار در سال‌های ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲ است. تیمارها: ۱: شاهد، ۲: N، ۳: T، ۴: SA، ۵: P، ۶: N+T، ۷: N+SA، ۸: N+P، ۹: N+T+SA، ۱۰: N+P+SA، ۱۱: N+P+T، ۱۲: N+P+T+SA. (N: نماتد، T: قارچ *Trichoderma viride*، SA: اسید سالیسیلیک، P: باکتری *Pseudomonas fluorescens*). A: (رقم Gina VF).

Figure 1. Effects of salicylic acid, *Pseudomonas fluorescens* CHA0, *Trichoderma viride* against *Meloidogyne incognita* race 2 on the activity of peroxidase, phenylalanine ammonialyase and catalase on different tomato cultivars in three different sampling times (1:one, 2: four 3:seven days after inoculation). Each value is the mean of four replicates in 2012 and 2013. Treatments: 1: control, 2: N, 3: T, 4: SA, 5: P, 6: N+T, 7: N+SA, 8: N+P, 9: N+T+SA, 10: N+P+SA, 11: N+P+T, 12: N+P+T+SA. (N: Nematode, T: *Trichoderma viride*, SA: Salicylic acid, P: *Pseudomonas fluorescens*). A: (Gina VF).

www.SID.ir



شکل ۲. تأثیر اسید سالیسیلیک، باکتری *Pseudomonas fleurescens* CHA0، قارچ *Trichoderma viride* در برابر *Meloidogyne incognita* race2 بر فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم‌های مختلف گوجه‌فرنگی در سه زمان نمونه‌برداری (۱: یک، ۲: چهار و ۳: هفت روز پس از مایه‌زنی). هر میزان میانگین چهار تکرار در سال‌های ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲ است. تیمارها: ۱: شاهد، ۲: N، ۳: T، ۴: SA، ۵: P، ۶: N+T، ۷: N+SA، ۸: N+P، ۹: N+T+SA، ۱۰: N+P+SA، ۱۱: N+P+T، ۱۲: N+P+T+SA. (N: نماتد، T: قارچ *Trichoderma viride*، SA: اسید سالیسیلیک، P: باکتری *Pseudomonas fluorescens*). B: (رقم Falat CH)، C: (رقم Falat 111)، D: (رقم Karoon).

Figure 2. Effects of salicylic acid, *Pseudomonas fluorescens* CHA0, *Trichoderma viride* against *Meloidogyne incognita* race 2 on the activity of catalase on different tomato cultivars in three different sampling times (1:one, 2: four 3:seven days after inoculation). Each value is the mean of four replicates in 2012 and 2013. Treatments: 1: control, 2: N, 3: T, 4: SA, 5: P, 6: N+T, 7: N+SA, 8: N+P, 9: N+T+SA, 10: N+P+SA, 11: N+P+T, 12: N+P+T+SA. (N: Nematode, T: *Trichoderma viride*, SA: Salicylic acid, P: *Pseudomonas fluorescens*). B: (Falat CH), C: (Falat 111), D: (Karoon).

www.SID.ir

نتایج به‌دست‌آمده از جدول مقایسهٔ میانگین بین تیمارها نشان داد، بیشترین میزان این آنزیم در تیمار ۱۲ (N+P+T+SA) و کمترین در تیمار شاهد به ثبت رسید. در بین سه عامل القاءکننده، اسید سالیسیلیک (SA) نسبت به تیمار باکتری (P) و قارچ (T) بیشترین تأثیر را در افزایش میزان آنزیم کاتالاز در هر چهار رقم داشت. در بین چهار رقم، بیشترین در رقم Gina VF و کمترین میزان در رقم Karoon به ثبت رسید. این افزایش در رقم‌ها با حساسیت کمتر، بیشتر از رقم‌های به‌شدت حساس بوده است (شکل ۱و ۲- A-D). قارچ *T. viride* و باکتری *P. fluorescens pf1* تولید فنیل پروپانوئیدها را در برابر حملهٔ *Diplocarpon rosae* G تحریک می‌کنند (Karthikeyan *et al*., 2007). کاتالاز نقش مهمی در زیست‌سوزی (کاتابولیسم) پراکسید هیدروژن (H2O2) ایفا می‌کند. این آنزیم تجزیهٔ پراکسید هیدروژن را سرعت می‌بخشد (Mariutto *et al*., 2011). فعالیت کاتالاز بین رقم‌های حساس، به نسبت مقاوم و مقاوم گوجه‌فرنگی در مقابل *Oidium neolycopersici* متفاوت است (Tomankova *et al*., 2006). تیمار گیاه گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد ریشهٔ گرهی (*Meloidogyne javanica*) با بتاآمینوبوتیریک اسید (BABA)، اسید سالیسیلیک و باکتری *Pseudomonas fleurescense* CHA0، فعالیت آنزیم‌های سوپراکساید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز گوایکول (GPOX) و کاتالاز می‌شود (Sahebani & hadavi, 2009). نتایج به‌دست‌آمده از این تحقیق با دیگر یافته‌ها در این مورد همخوانی دارد (Sarafraz Nikoo *et al*., 2014; Sahebani *et al*., 2006). این همخوانی در نتایج بررسی تأثیر بازدارندگی اسید سالیسیلیک در تکثیر نماتد *Meloidogyne javanica* روی گوجه‌فرنگی نیز مشهود است. نتایج تحقیق یادشده نشان داد، اسید سالیسیلیک توانایی لازم برای کاهش تولیدمثل نماتد ریشهٔ گرهی را داشته و مایه‌زنی بذر می‌تواند یکی از روش‌های مناسب برای این کاربرد باشد (Moslemi *et al*., 2016). همچنین با نتایج به‌دست‌آمده در مورد تأثیر اسید سالیسیلیک روی نماتد زخم ریشهٔ گندم نیز همخوانی به چشم می‌خورد (Ketabchi *et al*., 2014).

تجمع فنل، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز در گیاهان تیمارشده با *Trichoderma/ Hypocrea* همراه با افزایش میزان کیتین، در مقابل با قارچ *Rhizoctonia solani* نیز افزایش یافته است (Kumar Solanki *et al*., 2011). به طریق مشابه تیمار بذرهای بادام‌زمینی با باکتری سودوموناس باعث تجمع سریع آنزیم‌های دفاعی مرتبط با مقاومت مانند کیتیناز، بتا ۱ و ۳ گلوکاناز، پراکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز در بذرهای بادام‌زمینی شده‌اند (Kishore *et al*., 2006). فنیل‌آلانین آمونیالیاز، آنزیمی کلیدی در سوخت‌وساز (متابولیسم) فنیل پروپانوئیدهاست. این مرحله یک واکنش بیوشیمیایی کلیدی در نمو و دفاع گیاهان به شمار می‌رود (Chang *et al*., 2008).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این بررسی نشان داد، در هر چهار رقم مورد بررسی، تجمع قابل توجهی از آنزیم کاتالاز مشاهده می‌شود و درزمینهٔ پراکسیداز و فنیل‌آلانین آمونیالیاز این تجمع به ترتیب مقادیر کمتری دارد. در همهٔ روزهای نمونه‌برداری، گیاهان تیمارشده با عامل‌های القای مقاومت، افزایش قابل توجهی در تجمع آنزیم‌ها نسبت به شاهد آلوده به نماتد نشان دادند. به دلیل حرکت بین سلولی نماتد ریشهٔ گرهی و بهره‌برداری مسالمت‌آمیز آن از گیاه، سازوکارهای دفاعی میزبان به‌ویژه در رقم‌های حساس‌تر، کاهش می‌یابد. در این تحقیق، بیشترین میزان آنزیم‌های تولیدشده در تلفیق سه عامل القاءکننده به همراه نماتد (N+P+T+SA) به ثبت رسید، که نشان از مؤثرتر واقع‌شدن مدیریت و مهار تلفیقی عامل‌های یادشده دارد. در بین سه عامل، تیمار اسید سالیسیلیک (SA) نسبت به تیمار باکتری (P) و قارچ (T)، بیشترین تأثیر در افزایش آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیالیاز، پراکسیداز و کاتالاز را داشته است. در مقام مقایسه بین دو تیمار دیگر، می‌توان گفت که در مورد آنزیم پراکسیداز، قارچ تریکودرما و در مورد کاتالاز، باکتری سودوموناس فعالیت بیشتری از خود نشان داده‌اند. به‌طورکلی بیشترین میزان افزایش در بین سه زمان مورد آزمون، در روز چهارم نمونه‌برداری و در رقم Gina VF

Archive of SID

www.SID.ir

مشاهده شد و کمترین میزان آن در زمان اول نمونه‌برداری و در رقم Karoon به ثبت رسید. به عبارتی در بازهٔ زمانی چهار روز پس از ایجاد آلودگی، فعالیت‌های دفاعی میزبان به بیشترین میزان خود رسیده است. در برهمکنش میزبان و بیمارگر، با مقایسهٔ رقم‌های متحمل و حساس می‌توان به این نکته پی برد که در بیشتر موارد، سرعت تجمع ترکیب‌های دفاعی در رقم متحمل، بالاتر از رقم حساس است به‌گونه‌ای که می‌توان یک رابطهٔ خطی مثبت بین میزان ترکیب‌های فنلی و مقاومت گیاه متصور شد (Goodman *et al*., 1986).

REFERENCES

1. Barker, K. R., Carter, C. C. & Sasser, J. N. (1985). Methodology of an advanced treatise on *Meloidogyne*. Volume II. North Carolina State University Graphics.
2. Bera, S. & Purkayastha, R. P. (1999). Multicomponent coordinated defense response of rice to *Rhizoctonia solani* causing sheath blight. *Currents Science*, 76, 1376-1384.
3. Chance, B. & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. *Methods Enzymology*, 11, 764-755.
4. Chang, A., Lim, M. H., Lee, S. W., Robb, E. J. & Nazar, R. N. (2008). Tomato *PAL* gene family: highly redundant but strongly underutilized. *Journal of Biology and Chemistry*, 283, 33591-33601.
5. Chen, C., Belanger, R. R., Benhamou, N. & Paulitz, T. C. (2000). Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 56, 13-23.
6. Deepaka, Sh., Niranjan-Raja, S., Shailasreea, Sh., Kinia, R.K., Boland, W., Shettya, H. S. & Mithofer, A. (2007). Induction of resistance against downy mildew pathogen in pearl millet by a synthetic jasmonate analogon. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 71, 96-105.
7. Esfahani, L., Jamali, S., Saeedizadeh, A. & Pedramfar, H. (2016). Effectiveness of salicylic acid, *Pseudomonas fluorescens* CHA0 and *Trichoderma viride* to control *Meloidogyne incognita* race 2 on different tomato cultivars. *Hellenic Plant Protection Journal*, 9, 35-43.
8. Gharabadiyan, F., Jamali, S., Ahmadiyan yazdi, A. & Eskandari, A. (2012). Source of resistance to root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) in tomato cultivars. *Journal of Agricultural Technology*, 8(6), 2011-2012.
9. Goodman, R. N., Kiraly, Z. & Wood, K. P. (1986). *Biochemical and physiological aspects of plant disease*. (2nd ed.). USA: University of Missouri Press. 433pp.
10. Howell, C. R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biocontrol of plant disease: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87, 4-10
11. Hussey, R. S. & Barker, K. R. (1973). A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Disease Reporter*, 57, 1025-1028.
12. Jepson, S. B. (1987). *Identification of root-knot nematodes*. (Pp. 847-853).Cambrian News Ltd.
13. Karthikeyan, M., Bhaskaran, R., Mathiyazhagan, S. & Velazhahan, R. (2007). Influence of phylloplane colonizing biocontrol agents on the black spotof rose caused by *Diplocarpon rosae*. *Journal of Plant Interactions*, 2(4), 225-231.
14. Ketabchi, S. Majzoob, Sh. & Charegani, H. A. (2014). Effect of salicylic acid and methyl jasmonate on phenylalanine ammonia-lyase activity and total phenol in wheat infected by *Pratylenchus thornei*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 48(1), 1-8.
15. Kishore, G. K., Pande, S. & Podile, R. (2006). *Pseudomonas aeruginosa* GSE 18 inhibits the cell wall degrading enzymes of *Aspergollus niger* and activates defense-related enzymes of groundnut in control of collar rot disease. *Australasian Plant Pathology*, 35, 259-263.
16. Kloepper, J., Tuzun, S. & Kuc, J. (1992). Proposed definitions related to induced disease resistance. *Journal of Biocontrol Science and Technology*, 2, 347-349.
17. Kumar Solanki, M., Singh, N., Kumar Singh, R., Singh, P., Srivastava, A. K., Kumar. S., Kashyap, P. L. & Arora, D. K. (2011). Plant defense activation and management of tomato root rot by a chitin-fortified *Trichoderma*/*Hypocrea* formulation. *Phytoparasitica*, 39, 471-481.
18. Mariutto, M., Duby, F., Adam, A., Bureau, C., Fauconnier, M. L., Ongena, M., Thonart, P. & Dommes, J. (2011). The elicitation of a systemic resistance by *Pseudomonas putida* BTP1 in tomato involves the stimulation of two lipoxygenase isoforms. *BMC Plant Biology*, 11, 29.
19. Mokhtari, S., Sahebani, N. & Etebarian, H. R. (2009). Study on biological control and systemic induction of peroxidase enzyme activity in tomato plant infected with root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) by Pseudomonas fluorescens CHA0 antagonist. *Jouranal of Agriculture*, 11(1), 151-161. (in Farsi)
20. Moslemi, F., Fatemi, S. & Bernard, F. (2016). Inhibitory effects of salicylic acid on *Meloidogyne javanica* reproduction in tomato plants. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 14(1), 1-7.

Archive of SID

www.SID.ir

21. Mpiga, P., Belanger, R. R., Paulitz, T. C. & Bennamou, N. (1997). Increased resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato plants treated with endophytic bacterium *Pseudomonas fluorescens* strain 63- 28. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 50, 301-320.
22. Naseri Nasab, F., Sahebani, N. & Etebarian, H. R. (2012). The effect of combination of salicylic acid and *Trichoderma harzianum* BI on tomato plant resistance against root-knot nematodes *Meloidogyne javanica*. *Journal of Plant Protection*, 25(4), 417-425. (in Farsi)
23. Oka, Y., Koltai, H., Bar-Eyal, M., Mor, M., Sharon, E., Chet, I. & Spiegel, Y. (2000). New strategies for the control of plantparasitic nematodes. *Pest Management Science*, 56, 983-988.
24. Perry, R. N., Moens, M. & Starr, J. L. (2010). *Root-knot Nematodes*. CABI Head Office, UK. 488pp.
25. Prithiviraj, B., Bais, H. P., Weir, T., Suresh, B., Najarro, E. H., Dayakar, B. V., Schweizer, H. P. & Vivanco, J. M. (2005). Down regulation of virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* by salicylic acid attenuates its virulence on *Arabidopsis thaliana* and *Caenorhabditis elegans*. *Infection and Immunity*, 73(9), 5319-5328.
26. Reuveni, R. (1995). Biochemical marker of disease resistance. In: Singh, R.P. and Singh, U. S. (ed.) *Molecular methods in plant pathology* (pp. 99-114). CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
27. Sahebani, N. & Hadavi, N. (2008). Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, 2016-2020.
28. Sahebani, N. & Hadavi, N. (2009). Induction of H_2O_2 and related enzymes in tomato roots infected with root-knot nematode (*M. javanica*) by several chemical and microbial elicitors. *Biocontrol Science and Technology*, 19, 301-313.
29. Sahebani, N., Roustaei, A. & Hadavi, N. (2006). Evaluation of biological control of root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma viride*. *Iranian Journal of Agriculture Science*, 37(3), 411-405. (in Farsi)
30. Sarafraz Nikoo, F., Sahebani, N., Aminian1, H., Mokhtarnejad, L. & Ghaderi, R. (2014). Induction of systemic resistance and defense-related enzymes in tomato plants using *Pseudomonas fluorescens* CHA0 and salicylic acid against root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. *Journal of Plant Protection Research*, 54 (4), 383-389.
31. Siddiqui, I. A. & Shaukat, S. S. (2003). Suppression of root-knot disease by *Pseudomonas fluorescens* CHAO in tomato: importance of bacterial secondary metabolite, 2, 4-diacetylpholoroglucinol. *Soil Biology and Biochemistry*, 35 (12), 1615-1623.
32. Sikora, R. A. & Hoffmann-Hergarten, S. (1993). Biological control of plant–parasitic nematodes with plant–health promoting rhizobacteria, in pest management: Biologically based technologies. In: Proceedings of *Beltsville Symposium XVIII*, ed. by Lumsden R. D. and Vaughn JL, American Chemical Society, Washington DC. Pp. 166-172.
33. Steiner, U. & Schönbeck, F. (1995). Induced disease resistance in monocots. In: *Induced resistance to disease in plants*. (pp. 86-110). Springer, Dordrecht.
34. Taheri, P. & Tarighi, S. (2010). Riboflavin induces resistance in rice against *Rhizoctonia solani* via jasmonate-mediated priming of phenylpropanoid pathway. *Journal of Plant Physiology*, 167, 201-208.
35. Taylor, D. P. & Netscher, C. (1974). An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. *Nematologica*, 20, 268-269.
36. Thiyagarajan, S. S. & Kuppusamy, H. (2014). Biological control of root knot nematodes in chillies through Pseudomonas fluorescens's antagonistic mechanism. *Journal of Plant Sciences*, 2(5), 152-158.
37. Thompson, D. C. (1996). Evaluation of bacterial antagonists for reduction of summer pateh symptoms in Kentucky blue grass. *Plant Disease*, 80, 850-862.
38. Tomankova, K., Luhova, L., Petrivalsky, M., Pec, P. & Lebeda, A. (2006). Biochemical aspects of reactive oxygen species formation in the interaction between *Lycopersicon* spp. and *Oidium neolycopersici*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 68(1-3), 1-11.
39. Trudgill, D. L. & Blok, V. C. (2001). Apomictic, polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 39, 53-77.
40. Van-Loon, L., Baker, P. A. & Pieterse, C. M. (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annul Review of Phytopathology*, 36, 453-483.
41. Zhang, S., Moyne, A. L., Reddy, M. S. & Kloepper, J. W. (2002). The role of salicylic acid in induced systemic resistance elicited by plant growth promoting rhizobacteria against blue mold of tobacco. *Biological Control*, 25, 288-296.

Archive of SID

www.SID.ir