مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد چهاردهم، شماره ششم، بهمن ـ اسفند ۱۳۸۶
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

اثر قارچ *Trichoderma harzianum* در سیستمیک شدن ترکیبات فنلی ایجاد شده در گیاه گوجه فرنگی علیه نماتد مولد گره ریشه *Meloidogyne javanica*

*حسن ملکی زیارتی[۱]، نواز اله صاحبانی[۲]، کامران رهنما[۳] و ناهید نوری[۴]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه گیاهپزشکی دانشگاه تهران پردیس ابوریحان، [۲]استادیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه تهران پردیس ابوریحان، [۳]دانشیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی ومنابع طبیعی گرگان، [۴]کارشناس گیاهپزشکی

تاریخ دریافت: ۸۵/۷/۲۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۶/۱/۲۹

چکیده

اثر جدایه Bi قارچ تریکودرما در تحریک مقاومت القایی سیستمیک گیاهچه گوجه‌فرنگی رقم کینگ استون براساس میزان فنل کل تولید شده در ریشه و ساقه گوجه‌فرنگی اندازه‌گیری شد. ریشه‌های گیاهچه‌ها به وسیله قارچ تریکودرما *Trichoderma harzianum* و لارو سن دوم نماتد *Meloidogyne javanica* با روش تقسیم ریشه (Split root system) مایه‌زنی گردید. تغییرات میزان فنل کل در ریشه و ساقه از روز اول بعد از مایه‌زنی به‌طور روزانه و به مدت ۷ روز با استفاده از روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۷۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. حداکثر میزان فنل کل ریشه در تیمار مایه‌زنی با نماتد در روز هفتم ۰/۶۱۲ میکروگرم بر گرم ریشه گیاه اندازه‌گیری شد. در تیمار مایه‌زنی با قارچ حداکثر میزان فنل کل در روز ششم بعد از مایه‌زنی، ۰/۶۳۳ میکروگرم بر گرم ریشه گیاه اندازه‌گیری شد. همچنین در بررسی امکان سیستمیک شدن ترکیبات فنلی در کاهش آلودگی نماتد *Meloidogyne javanica* توسط قارچ تریکودرما در ساقه حداکثر میزان فنل کل ۰/۵۷۹ میکروکرم بر گرم ساقه گیاه در روز هفتم بعد از مایه‌زنی اندازه‌گیری شد. نتایج تغییرات در میزان فنل کل در ریشه و ساقه در طی زمان‌های مختلف پس از مایه کوبی نشان داد که امکان تحریک مقاومت القایی سیستمیک در گیاه گوجه‌فرنگی به‌وسیله قارچ تریکودرما علیه نماتد *Meloidogyne javanica* وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: کنترل بیولوژیک، ترکیبات فنلی، *M. javanica* ، *T. harzianum*، مقاومت القایی سیستمیک گوجه‌فرنگی.

مقدمه

نماتد مولد گره ریشه *Meloidogyne spp* از عوامل خسارت‌زا بوده که دامنه وسیعی از محصولات اعم از سبزیجات، گیاهان زراعی و علف‌های هرز را آلوده می‌کنند (زوو و همکاران، ۲۰۰۱). تاکنون ۲۰۰۰ میزبان گیاهی برای آنها گزارش شده است (جیپسون، ۱۹۸۷). به‌دلیل مشکل بودن مدیریت و مبارزه شیمیایی نماتدها، محققان به دنبال دستیابی به راه‌های مناسب کنترل این نماتد هستند. در سال‌های اخیر روش مناسب کنترل به‌وسیله آنتاگونیست‌ها مطرح شده که در کنترل بیولوژیک

*- مسئول مکاتبه: zia1614@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

اهمیت دارد (شارون و همکاران، ۲۰۰۱) و فاقد آلودگی‌های زیست‌محیطی نیز می‌باشند (هارمن و همکاران، ۲۰۰٤).

قارچ *Trichoderma harzianum* Rifai 1969 یکی از عوامل مفیدی است که می‌تواند با پارازیته کردن تخم، لاروو سیست نماتد *M. javanica* جمعیت این پارازیت را کاهش دهد. این قارچ همچنین قادر است مقاومت گیاه را در مقابل نماتدها تحریک نموده و باعث کاهش خسارت گردد (اشنایدر والریچ، ۱۹۹٤؛ وان لون ووان استرین، ۱۹۹۹). عکس‌العمل‌های دفاعی گیاه ممکن است به‌صورت موضعی و سیستمیک بروز نماید که در حالت سیستمیک شدن میزان برخی مواد مثل محتویات فنلی و آنزیم‌های دفاعی پراکسیداز در گیاه افزایش می‌یابند. مواد فنلی گروهی از ترکیبات با وزن مولکولی پایین هستند که پس از تحریک گیاه به‌وسیله عوامل زنده مختلف میزان آنها در گیاه افزایش می‌یابند. نقش مواد فنلی از سال‌ها قبل در مقاومت گیاهان به عوامل بیماری‌زای قارچی مورد توجه قرار گرفته است (محمدی و کاظمی، ۲۰۰۲). در بررسی تغییرات کمی محتویات فنلی در ارقام مختلف جو در طول مدت رشد قارچ *Puccinia hordei* و ارتباط آنها با مقاومت این ارقام نسبت به بیماری زنگ قهوه‌ای جو نتیجه گرفت که ترکیبات فنلی یکی از عوامل ایجاد مقاومت به زنگ هستند (اعتباریان، ۱۹۸۹).

بررسی‌های هستیو شیمیایی نشان داده‌اند که در ریشه موز آلوده به نماتد *Rhadopholus similis* (Cobb) Thorne ایجاد کالوز[1] در اطراف منطقه تغذیه نماتد در اثر تجمع مواد فنلی در سلول‌های پارانشیمی میزبان می‌باشد که مرتبط با پاسخ‌های دفاعی گیاه هستند (والت و همکاران، ۱۹۹۸). مواد فنلی به همراه سایر آنزیم‌ها و مواد دفاعی نظیر پراکسیدازها، پلی‌فنل اکسیداز در مقاومت علیه بیمارگرهای گیاهی خصوصاً نماتدها به‌صورت سیستمیک دخالت دارند و تغییراتی در مقدار و میزان این مواد در میزبان پدید می‌آید. اثر متقابل نماتد مولد گره ریشه *Meloidogyne spp* و گیاه گوجه‌فرنگی در روش تقسیم ریشه باعث تغییراتی در میزبان و بیان سیستمیک شدن مواد فنلی و آنزیم‌های دفاعی به‌ویژه پراکسیداز می‌شوند (اوگالو و مک لور، ۱۹۹٦). کلونیزه شدن سطح ریشه گیاه توسط آنتاگونیست‌ها می‌تواند منجر به کاهش حمله مستقیم عوامل بیماریزا با تولید مواد آنتی میکروبی و غیره باشد که سبب ایجاد مقاومت القایی سیستمیک[2] می‌شوند (کلوپر و بوپامپ، ۱۹۹۲).

مقاومت القایی سیستمیک (ISR) پس از تحریک گیاه توسط آنتاگونیست‌ها و عوامل بیماری‌زا توان دفاعی گیاه را افزایش می‌دهد (ون لون و همکاران، ۱۹۹۸).

بسیاری از آنزیم‌ها از جمله پراکسیداز، کیتیناز، محتویات فنلی در ارتباط با مقاومت القایی سیستمیک (ISR) می‌باشند (اشنایدر و اولریخ، ۱۹۹٤). القاء مقاومت در میزبان توسط گونه‌های مختلف جنس *Trichoderma spp* گزارش شده است (هاول، ۲۰۰۳). با مایه‌زنی ریشه گیاهچه‌های خیار پس از ۷ روز در سیستم کشت هیدروپونیک با قارچ *T.harzianum T-203* و غلظت 10^5 اسپور در میلی‌لیتر، پاسخ‌های دفاعی در ریشه و برگ گیاه القاء می‌شوند (یدی دیا و همکاران، ۱۹۹۹).

بیماری نماتد مولد گره ریشه *M. javanica* یکی از چهار گونه مهم این جنس می‌باشد که انتشار جهانی داشته و در تمام مناطق کشورمان به محصولات مختلف زراعی، باغی، درختان میوه، گیاهان زینتی و غیره خسارت می‌زنند و شیوع آن در استان‌های فارس، اصفهان، ورامین، گرمسار، خوزستان و استان‌های شمالی کشور بیش از دیگر مناطق می‌باشد (مهدیخانی و همکاران، ۲۰۰۳).

هدف از این تحقیق بررسی اثرجدایه قارچ *Trichoderma harzianum Bi* روی تحریک مقاومت سیستمیک گوجه‌فرنگی (به‌ویژه القاء ترکیبات فنلی) در گلخانه با استفاده از روش تقسیم ریشه و

1- Callose

2- Induced Systemic Resistance

Archive of SID

www.SID.ir

ارزیابی میزان تغییرات ترکیبات فنلی تولید شده قابل حل در متانول در طول مدت رشد قارچ تریکودرما و نماتد مولد گره ریشه در زمان‌های مختلف پس از مایه‌کوبی در ریشه و ساقه گوجه‌فرنگی رقم کینگ استون[1] در آزمایشگاه بوده است.

مواد و روش‌ها

تهیه مایه تلقیح نماتد *M. javanica*: نماتد مولد گره ریشه *M. javanica* از بخش نماتد شناسی مؤسسه تحقیقات بیماری‌های گیاهی اوین به‌صورت خالص تهیه شد. با استفاده از مشخصات الگوی انتهای بدن ماده[2] شناسایی انجام گرفت (جیپسون، ۱۹۸۷). ابتدا تکثیر روی گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی رقم حساس ارلی اوربانا[3] و روما.وی.اف[4] صورت گرفت. گیاهچه‌ها به‌مدت ۶۰- ۴۵ روز در شرایط مساعد گلخانه نگهداری شدند و پس از تشکیل گال و توده تخم روی ریشه و انتقال مجدد آنها روی گیاهان جدید و چندین دوره متوالی تکثیر روی گوجه‌فرنگی جمعیت کافی نماتد خالص *M. javanica* به‌دست آمد (جیپسون، ۱۹۸۷). برای انجام آزمایش‌های استخراج لاروسن دوم با استفاده از روش هوسی و بارکر (۱۹۷۳) انجام گرفت.

جدایه قارچ *Trichoderma harzianum Bi* Rifai توسط دکتر روحانی از مزارع کرج جدا و خالص‌سازی شده است. و پس از تک اسپور نمودن روی محیط سیب‌زمینی دکستروز آگار تکثیر شد. پس از تهیه سوسپانسیون اسپور در آب مقطر با استفاده از لام گلبول شمار (هموسیتومتر) غلظت مؤثر 10^6 اسپور در میلی‌لیتر قارچ تهیه شد.

آزمایش بررسی اثر قارچ *T.harzianum* در سیستمیک شدن ترکیبات فنلی ایجاد شده بر علیه نماتد *M.javanica* در ریشه گوجه‌فرنگی در گلخانه: در این آزمایش ابتدا بذور گوجه‌فرنگی رقم کینگ استون با وایتکس ۱۰ درصد (حاوی ۵ درصد هیپوکلریت سدیم و به‌مدت یک دقیقه) ضد عفونی سطحی شد و در داخل گلدان‌های حاوی خاک الک شده (شامل هوموس، خاک مزرعه، ماسه با نسبت ۱:۱:۲ و پاستوریزه شده در دمای ۸۵ درجه به‌مدت ۳۰ دقیقه) در اتوکلاو کشت گردید. پس از آماده شدن گیاهچه‌ها در مرحله ٦ برگی از گلدان‌ها با دقت خارج شده و ریشه آنها چندین بار با آب شستشو داده شد. سپس ریشه هر گیاه به دو نیمه تقسیم گردید و هر نیمه در گلدان (ظرف یکبار مصرف ۲۵۰ گرمی) مجزا قرار داده شد (شکل ۱) (اگالو و مک لور، ۱۹۹٦). به یک نیمه ریشه قارچ تریکودرما با غلظت 10^6 اسپورقارچ در میلی‌لیتر آب مقطر به روش سوسپاسیون اسپور[5] به‌مدت ۵ دقیقه مایه‌کوبی شد (برای چسبیدن بهتر اسپور به ریشه گیاهچه‌ها از ماده کربوکسی متیل سلولز به میزان یک گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپوراستفاده شد) و به نیمه دیگر نماتد با جمعیت ۲۰۰۰ لاروسن دوم در ۲۵۰ گرم خاک مایه‌کوبی شد و گلدان‌ها در تشت بزرگ حاوی آب ۲۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و دمای آب داخل تشت توسط هیترآکواریومی تنظیم شد. میزان آبدهی به گیاهچه‌های مورد آزمایش به اندازه مصرف روزانه هر گیاه بوده است. شاهد گیاهانی هستند که نیمی از ریشه با نماتد مایه‌کوبی شد و نیمی دیگر بدون مایه‌کوبی شده بود. سپس به‌مدت ۷ روز متوالی (منظور فقط اندازه‌گیری ترکیبات فنلی در مرحله نفوذ لارو سن دوم نماتد و تشکیل اولین گال‌ها بوده است) و به فاصله یک روز نمونه‌برداری از ریشه انجام شد. عصاره‌گیری از ریشه در ظرف یخ انجام شد و نمونه‌ها تا موقع مصرف در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد (محمدی و کاظمی، ۲۰۰۲) نگهداری شدند.

آزمایش بررسی اثر قارچ *T. harzianum* در سیستمیک شدن ترکیبات فنلی ایجاد شده بر علیه نماتد *M. javanica* در ساقه گوجه‌فرنگی: از ساقه ۵

1- King stone
2- Preneal pattern
3- Early urbana
4- Roma VF
5- Root dip

Archive of SID

www.SID.ir

سانتی‌متر ابتدای ساقه گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی بـه مقـدار یک گرم بافت ساقه به مـدت ۷ روز متـوالی و بـه فاصـله یـک روز نمونـه‌بـرداری انجـام شـد. عصـاره‌گیـری از نمونه‌های ساقه در ظرف یخ انجام شد و نمونه‌ها تا موقـع مصـرف در فریـزر ۲۰- درجـه سـانتی‌گـراد (محمـدی و کاظمی، ۲۰۰۲) نگهداری شدند.

طرز استخراج فنل از گیاه: یک گرم بافـت گیـاه (اعـم از ریشه یا ساقه) را در هاون چینی له کـرده و ۱۰ میلـی‌لیتـر متانول ۸۰ درصـد بـه آن اضـافه کـرده و کـاملاً مخلـوط گردید. عصاره حاصل از دو لایه پارچه ململ عبور داده و در شیشه‌های مک کارتی نگهـداری شـد. سـپس عصـاره به‌دست آمـده در ٤۰۰۰ دور در دقیقـه بـه‌مـدت ۵ دقیقـه سانتریفوژ گردید و تا موقع مصرف در فریزر ۲۰- درجـه سانتی‌گراد نگهداری شدند (محمدی و کاظمی، ۲۰۰۲).

اندازه‌گیری میزان تغییرات فنل کـل: میـزان مـواد فنلـی موجود در عصاره ریشه‌ها و سـاقه توسـط معـرف فـولین اندازه‌گیری شـد (اعتباریـان، ۱۹۸۹). در لولـه آزمـایش ۷ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته و مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از عصـاره ریشه به آن اضافه نموده سپس ۰/۵ میلی‌لیتـر نیـز معـرف فولین به آن اضافه شد و کاملاً مخلـوط گردیـد. ۳ دقیقـه بعد یک میلی‌لیتر کربنات سـدیم اشـباع بـه محتـوی لولـه اضافه و مجدداً خوب مخلوط گردید. بعد از یـک سـاعت میزان جذب رنگ در طول موج ۷۲۵ نانومتر با اسـتفاده از دسـتگاه اسـپکتروفنومتر مـدل اسـپکترونیک ۵۰۱ قرائـت گردید.

منحنی استاندارد و معادله رگرسیون: ماده کافئیک اسـید[1] به‌عنوان معیار مقایسه مواد فنلی مورد استفاده قرار گرفـت (اعتباریان، ۱۹۸۹). ۱۰ میلـی‌گـرم کافئیـک اسـید را بـا ۵ میلی‌لیتر متانول خالص حل کرده و حجم آن با آب مقطـر به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس مقـادیر ۱،۰/۵، ۲، ۳، ٤، ٦ و ۸ میلی‌لیتر از محلول جداگانه در لوله آزمایش ریختـه و حجم آنها با افزودن آب به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. بـه این ترتیب در ۰/۵ میلی‌لیتر از آنهـا بـه‌ترتیـب ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ٤۰، ۵۰، ٦۰ و ۸۰ میکروگـرم کافئیـک اسـید وجـود دارد. برای صفر کردن دستگاه از محلولی که فاقد کافئیـک اسید بوده استفاده گردید.

کلیه آزمـایش‌هـای بررسـی اثـر قـارچ تریکودرمـا در سیستمیک شدن محتویات فنلی بر علیه نماتـد مولـد گـره ریشه به‌صورت فاکتوریل با دو عامل زمان نمونـه‌بـرداری در ۷ سطح (متعلق به هفت روز) و عامـل تیمـار نماتـد و تیمار قارچ و شاهد در سـه سـطح در قالـب طـرح کـاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شـد و مقایسـه میـانگین داده‌هـا براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصـد در نـرم افزار SAS و رسم تمامی نمودارها در نرم افـزار Excel انجام گرفت.

نتایج

بررسـی نتـایج آزمـایش اثـر قـارچ *T. harzianum* جدایه Bi در سیستمیک شدن ترکیبات فنلی ایجاد شده بر علیه نماتد در ریشه گوجه‌فرنگی در دو تیمار اندازه‌گیـری شد:

الف- نیمی از ریشه با نماتد مایه‌زنی شد: در این تیمـار میزان فنل کل در روز اول تا سوم با شاهد خـود اخـتلاف معنی‌دار داشـته ($P\leq$۰/۰۵) و در روز چهـارم بـا افـزایش ناگهـانی (از کـلاس آمـاری gh بـه m افـزایش یافـت)، اختلاف قابل توجه بوده است و حداکثر میزان فنل کل در روز هفـتم بعـد از مایـه‌زنـی (۰/٦۱۲ میکروگـرم در گـرم عصاره ریشه) اندازه‌گیری شد. در گیاهان شاهد (نیمـی از ریشه با نماتـد و نیمـی دیگـر بـدون مایـه‌زنـی) در طـی روزهای متوالی اختلاف معنی‌دار وجـود داشـت (جـدول ۱).

ب- نیمی دیگر از ریشه با قارچ مایه‌زنی شـد: در ایـن تیمـار از روز اول میـزان فنـل کـل بـا شـاهد اخـتلاف معنی‌داری داشت و در روز چهارم به‌طور ناگهانی افزایش یافت و حـداکثر میـزان آن (۰/٦۳۳ میکـرو گـرم در گـرم عصاره ریشه) در روز ششـم بعـد از مایـه‌زنـی بـود و بـه تدریج در روز هفتم (از کـلاس آمـاری q بـه n) کـاهش

1- Caffeic acid

Archive of SID

www.SID.ir

یافت. در گیاهان شاهد (نیمی از ریشه بدون مایه‌زنی نیمی دیگر با نماتد مایه‌زنی شد) در طی روزهای متوالی اختلاف معنی‌دار وجود داشت (جدول ۱).

بررسی نتایج آزمایش اثر قارچ *T. harzianum* جدایه Bi در سیستمیک شدن محتویات فنلی ایجاد شده بر علیه نماتد در ساقه گوجه‌فرنگی: در این تیمار میزان فنل کل از روز دوم به بعد با شاهد اختلاف معنی‌دار ($P\leq$ ۰/ ۰۵) داشت و حداکثر میزان فنل کل (۰/۵۷۹ میکروگرم در گرم عصاره ساقه) در روز ششم بعد از مایه‌زنی اندازه‌گیری شد. در گیاهان شاهد (نیمی از ریشه با نماتد و نیمی دیگر ریشه بدون مایه‌زنی) از روز اول طی روزهای متوالی براساس کلاس آماری دارای اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۲).

شکل ۱- شمایی از روش تقسیم ریشه (Split root system) و مجزا شدن دو نیمه ریشه و مایه‌زنی نماتد و قارچ.

جدول ۱- متوسط میزان سیستمیک شدن ترکیبات فنلی (میکروگرم در گرم عصاره ریشه) در اثر قارچ تریکودرما بر علیه نماتد *M. javanica* در ریشه گوجه‌فرنگی.

	۷	٦	روز بعداز ٥	مایه‌زنی ٤	۳	۲	۱
بخش اول	۰/٦۱۲^{pq}	۰/٥٩٤^{fop}	۰/٤٧٧^{m}	۰/۱۹٦^{gh}	۰/۱٥۲^{de}	۰/۱۲٥^{c}	۰/۰۸٥^{b}
بخش دوم	۰/٥٥۱^{n}	۰/٦۳۳^{q}	۰/٥۷۹^{o}	۰/٤۳۳^{l}	۰/۲۱٤^{hi}	۰/۱۷^{ef}	۰/۱٤۱^{cd}
بخش سوم	۰/٦٥٦^{r}	۰/٥۹۹^{op}	۰/٥۸۱^{o}	۰/٤۳٤^{l}	۰/۲۲٤^{i}	۰/۱۸٤^{fg}	۰/۱٤٤^{cd}
بخش چهارم	۰/۲۸^{k}	۰/۲٥^{j}	۰/۲۱۷^{hi}	۰/۱۸٤^{fg}	۰/۱۳^{cd}	۰/۰۹^{b}	۰/۰٦^{a}

بخش اول: نیمه اول ریشه مایه‌زنی با نماتد ـ نیمه دوم ریشه مایه‌زنی با قارچ

بخش دوم: نیمه اول ریشه مایه‌زنی با قارچ ـ نیمه دوم ریشه مایه‌زنی با نماتد

بخش سوم (شاهد ۱): نیمه اول ریشه مایه‌زنی با نماتد ـ نیمه دوم ریشه بدون مایه‌زنی

بخش چهارم(شاهد۲): نیمه اول ریشه بدون مایه‌زنی ـ نیمه دوم مایه‌زنی با نماتد

- اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند براساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

- هر عدد میانگین ۳ تکرار است

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- متوسط میزان سیستمیک شدن ترکیبات فنلی (میکروگرم در گرم عصاره ساقه) در اثر قارچ تریکودرما بر علیه نماتد *M. javanica* در ساقه گوجه‌فرنگی.

	۷	٦	روز بعد از ٥	مایه‌زنی ٤	۳	۲	۱
مایه کوبی بانماتد- قارچ	۰/۱٦۲^{c}	۰/۳۷٥^{f}	۰/۳٤۲^{e}	۰/۱۸٦^{d}	۰/۱٤٤^{c}	۰/۱۱۲^{b}	۰/۰٥۲^{a}
بدون مایه کوبی- نماتد	۰/٥۷۹^{f}	۰/٤۸۸^{e}	۰/٤٤۳^{d}	۰/۲۸٤^{c}	۰/۱۰٥^{b}	۰/۰۳۱^{a}	۰/۰۲٦^{a}

- اعدادی که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند براساس آزمون دانکن در سطح ٥ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

- هر عدد میانگین ۳ تکرار است.

شاهد گیاهانی هستند که نیمی از ریشه با نماتد و نیمی دیگر بدون مایه‌زنی بود

بحث

با توجه به نتایج آزمایش اثر جدایه Bi قارچ *T. harzianum* در سیستمیک شدن محتویات فنلی ایجاد شده بر ضد نماتد *M. javanica* در ریشه گوجه‌فرنگی چنین نتیجه‌گیری می‌شود که جدایه Bi قارچ *T. harzianum* باعث تحریک مقاومت گیاه در اثر افزایش میزان فنل کل بوده است و به‌طور سیستمیک نیز عامل القاءکننده سنتز فنل را به نیمی دیگر ریشه و قسمت‌های دیگر گیاه از جمله ساقه انتقال می‌دهد. با نفوذ و فعالیت نماتد در داخل بافت گیاه و ارتباط مسالمت آمیز با میزبان به تدریج میزان فنل کل کاهش می‌یابد (حداکثر میزان فنل کل در روز ششم، ۰/٦۳۳ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره ریشه و کلاس آماری q به میزان ۰/٥٥ میکروگرم و کلاس آماری n در روز هفتم کاهش یافت) (جدول ۱). چنین به‌نظر می‌رسد که تنها ترکیبات فنلی نقش مؤثری در مقاومت میزبان علیه نماتدها نداشته و این ترکیبات همراه با سایر مواد دفاعی مثل آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز در مکانیسم‌های دفاعی نقش دارند که با نتایج اعتباریان (۱۹۸۹) واوگالو ومک لور (۱۹۹٦) مشابهت دارد. همچنین با توجه به نتایج آزمایش‌های فوق می‌توان چنین بیان کرد که جدایه *Bi* قارچ *T. harzianum* به مقدار قابل توجهی باعث سیستمیک شدن ترکیبات فنلی و تحریک مقاومت در سایر قسمت‌های گوجه‌فرنگی شده و پتانسیل بالقوه‌ای در کنترل نماتد مولد گره ریشه با ایجاد مقاومت القایی سیستمیک در گیاه دارد و تأثیر تحریک مقاومت گیاه توسط قارچ تریکودرما در تیمار ریشه مایه‌زنی با نماتد قابل توجه بوده است. اخیراً روش مقاومت القایی سیستمیک در ریز باکتری‌ها شناسایی شده و تحت عنوان مقاومت القایی سیستمیک ریزباکتری‌ها نام گرفت و همچنین توانایی جدایه T-22 قارچ تریکودرما *T. harzianum* را در ایجاد مقاومت القایی سیستمیک در گیاه ذرت علیه بیمارگرهای قارچی به اثبات رسید (هارمن و همکاران، ۲۰۰٤). در مورد نتایج اثرجدایه Bi قارچ *T. harzianum* در سیستمیک شدن ترکیبات فنلی در ساقه گیاه گوجه‌فرنگی چنین نتیجه‌گیری می‌شود که با القاء مقاومت قارچ در دو نیمه ریشه، میزان ترکیبات فنلی به‌طور سیستمیک در ساقه نیز افزایش یافته و نماتد بر مسیر سنتز ترکیبات فنلی تأثیر داشته و با نفوذ لارو سن دوم و شروع تغذیه نماتد در هفته اول بعد از مایه‌کوبی در داخل بافت گیاه میزان فنل کل در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش یافته است. بنابراین می‌توان چنین پیشنهاد کرد که جدایه *Bi* قارچ *T. harzianum* قادر است سیستم دفاعی گیاه (به‌ویژه میزان فنل کل گیاه) را القاء نماید و باعث ایجاد مقاومت القایی سیستمیک در گیاه گوجه‌فرنگی شده و میزان فنل کل را در قسمت‌های مختلف گیاه از جمله ریشه و ساقه و برگ القاء نماید و باعث کاهش میزان آلودگی گیاه و مقاومت به بیماری نماتد مولدگره شود. وقوع پدیده ایجاد مقاومت القائی سیستمیک در گیاهان توتون و گوجه فرنگی براساس تحقیقات انجام شده نشان داد که وابسته به تولید پروتئین‌های اختصاصی هستند که در ارتباط با پدیده

Archive of SID

www.SID.ir

بیماری‌زایی و سیستمیک شدن در گیاه تشکیل می‌شود (وان لون و وان استرین، ۱۹۹۹). تاکنون این قبیل پروتئین‌ها در ١٤ خانواده طبقه‌بندی شده‌اند. یکی از این گروه پروتئین‌ها مربوط به پروتئین شماره ۱ (PR-1) بوده که در گیاهان توتون و گوجه‌فرنگی به‌عنوان خانواده چند ژنی شناخته شده‌اند (وان لون و وان استرین، ۱۹۹۹). از طرفی برخی محققین پدیده مقاومت القایی سیستمیک را به سایر عوامل ارتباط داده‌اند که در برخی فرایندهای اثرات متقابل بیمارگر و میزبان به وجود این ترکیبات مانند: اسید جاسمونیک، اتیلن و اسید سالیسیلیک پی بردند (وان لون و همکاران، ۱۹۹۸؛ زو و همکاران، ۲۰۰۱).

منابع

1.Etebarian, H.R. 1989. Studies on quantitative changes in phenolic compounds of barley varieties during development of *Puccinia hordei* and the relationship between theses substances and brown rust resistance in barley. Iranian Journal of Plant Pathology 24:61-69.

2.Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I., and Lorito, M. 2004. *Trichoderma species*-opportunistic, avirulant plant symbionts. Nature Reviews Microbiology 2:43-56.

3.Howell, C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biocontrol of plant disease: the history and eveloution of current concepts. Plant Disease 87. 4 -10.

4.Hussey, R.S., and Barker, K.R. 1973. Comparison methods of collecting inocula of *Meloidogyne spp*. Including a new technique. Plant. Dis. Rep. 57: 1025-1028.

5.Jeapson, S.B. 1987. Identification of root-knot nematodes *Meloidogyne species*. Camberian International. 265 pp.

6.Klopper, J.W., and Beauchamp, C.J. 1992. A review of issues related to measuring colonization of plant roots by bacteria.Canadian. Journal. Microbiology. 38: 1219-1232.

7.Mehdikhani, E., Kheiri, A., Mohammadi, M., Eshtiaghi, H., and Okhovvat, M. 2003. Three new records of Meloidogyne species for Iran. Iranian Journal plant Pathology 39 (3,4). 189-211.

8.Mohammadi, M., and Kazemi, H. 2002. Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistant wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and induced resistance. Plant Science 162: 491-498.

9.Ogallo, J.L., and McClure, M.A. 1996. Systemic acquired resistance and susceptibility to root – knot nematode in tomato. Phytopathology. 86:498-501.

10.Roberts, P.A. 1993. Integration and protection of novel nematode manegment strategies. Fund. Appl. Nematol. 17: 203-219.

11.Schnider, S., and Ullrich, W.R. 1994. Differential induction of resistance and enhanced enzyme activities in cucumber and tobacco caused by treatment with various abiotic and biotic inducers . Physiol. Mol. Plant Pathol. 43: 57-67.

12.Sharon, E., Bar-Eyal, M., Chet, I., Herrera-Esterella, A., Keleifeld, O., and Spiegel, Y. 2001. Biological control of the root – knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum* . Phytopathology, 91:687-693.

13.Valette, C., Andary, C., Geiger, J.P., Sarah, J.L., and Nicol, M. 1998. Histochemical and cytological investigations of phenols in roots of bananas infected the burrowing nematode *Rhadopholus similis*.Phytopathology 82:1141-1148.

14.Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M., and Pieterse, C.M.J. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Ann. Rev. Phytopathol. 36: 453-483.

15.Van loon, L.C., and Van Strien, E.A. 1999. The families of pathogensis – related proteins, their activities and comparative analysis of PR-1 type proteins. Physiological and Molecular Plant Pathology, 55:85-97.

16.Xu, J., Narabu, T., Mizukubo, T., and Hibi, T. 2001. A molecular marker correlated with selected virulence againts the tomato resistance gene Mi in *Meloidogyne incogenita*, *M.javanica* and *M. arenaria* Phytopathology, 91: 377-382.

17.Yedidia, I., Benhamou, N., and Chet , I . 1999. Induction of defense response in cucumber Plants (*cucumis.sativus.L*) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. Appl. Environ. Microbiol. 65: 1061-1070.

Archive of SID

www.SID.ir

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 14(6), Feb-March 2008
www.jasnr.info
www.sid.ir
www.magiran.com/jasnr

Effect of fungus *Trichoderma harzianum* on induced systemic phenolic compounds against root knot nematode *Meloidogyne javanica* in tomato

[*]H. Maleki Ziarati[1], N. Sahebani[2], K. Rahnama[3] and N. Noori[4]
[1]Former M.Sc. student, Dept. of Plant Protection, Abouryhan Completex, University of Tehran, Iran,
[2]Assistant Prof., Dept. of Plant Protection, Abouryhan Compelex, University of Tehran, Iran,
[3]Associate Prof., Dept. of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, [4]Expert of Plant Protection, Iran

Abstract

Effect of fungus Trichoderma isolate Bi on stimulation of induced systemic resistance in tomato seedling king ston cultivar based on total phenol in root and stem was measured. Seedling roots were inoculated by *Trichoderma harzianum* fungus and root knot nematode second stage larvae by method of split root system.Changes of total phenol level in root and stem were daily measured by spectrophotometer in wave lengh 725nm from the first day of inoculation up to seven days.Maximum level of total phenol in root by nematode inoculation was measured at seventh day as 0.612µg in gram root of plant .By the fungal inoculation maximum level of total phenol measured at sixth day after inoculation as 0.633 µg in gram root of plant. The measurement of 0.579 µg phenolic compounds per gram of stem weight on the seventh day, from inoculated tomato seedling roots with *Trichoderma harzianum* is a sign of induced systemic of these substances. The results of total phenol level in root and stem during different time after inoculation indicated that there is a possible induced systemic resistance in tomato plant by Trichoderma fungus against of *M. javanica.*

Keywords: Biological control; Total phenol; *Meloidogyne javanica*; *Trichoderma harzianum*; Induced systemic resistance; Tomato.

Archive of SID

www.SID.ir