

## 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<sup>۱</sup>، نواز اله صاحبانی<sup>۲</sup>، کامران رهنما<sup>۳</sup> و ناهید نوری<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه گیاهپزشکی دانشگاه تهران پردیس ابوریحان، استادیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه تهران پردیس ابوریحان، <sup>۲</sup>دانشیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، <sup>۳</sup>کارشناس گیاهپزشکی تاریخ دریافت: ۸۵/۷/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۸۶/۱/۲۹

### چکیده

اثر جدایه Bi قارچ تریکودرما در تحریک مقاومت القایی سیستمیک گیاهچه گوجه فرنگی رقم کینگ استون براساس میزان فنل کل تولید شده در ریشه و ساقه گوجه فرنگی اندازه گیری شد. ریشه های گیاهچه ها به وسیله قارچ تریکودرما *Trichoderma harzianum* و لارو سن دوم نماتد *Meloidogyne javanica* با روش تقسیم ریشه (Split root system) مایه زنی گردید. تغییرات میزان فنل کل در ریشه و ساقه از روز اول بعد از مایه زنی به طور روزانه و به مدت ۷ روز با استفاده از روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۷۲۵ نانومتر اندازه گیری شد. حداکثر میزان فنل کل ریشه در تیمار مایه زنی با نماتد در روز هفتم ۰/۶۱۲ میکروگرم بر گرم ریشه گیاه اندازه گیری شد. در تیمار مایه زنی با قارچ حداکثر میزان فنل کل در روز ششم بعد از مایه زنی، ۰/۶۳۳ میکروگرم بر گرم ریشه گیاه اندازه گیری 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 میکروگرم بر گرم ساقه گیاه در روز هفتم بعد از مایه زنی اندازه گیری شد. نتایج تغییرات در میزان فنل کل در ریشه و ساقه در طی زمان های مختلف پس از مایه کوبی نشان داد که امکان تحریک مقاومت القایی سیستمیک در گیاه گوجه فرنگی به وسیله قارچ تریکودرما علیه نماتد *Meloidogyne javanica* وجود دارد.

**واژه های کلیدی:** کنترل بیولوژیک، ترکیبات فنلی، *T. harzianum*، *M. javanica*، مقاومت القایی سیستمیک گوجه فرنگی.

### مقدمه

می کنند (زوو و همکاران، ۲۰۰۱). تاکنون ۲۰۰۰ میزبان گیاهی برای آنها گزارش شده است (جیپسون، ۱۹۸۷). به دلیل مشکل بودن مدیریت و مبارزه شیمیایی نماتدها، محققان به دنبال دستیابی به راه های مناسب کنترل این نماتد هستند. در سال های اخیر روش مناسب کنترل به وسیله آنتاگونیست ها مطرح شده که در کنترل بیولوژیک

نماتد مولد گره ریشه *Meloidogyne spp* از عوامل خسارت زا بوده که دامنه وسیعی از محصولات اعم از سبزیجات، گیاهان زراعی و علف های هرز را آلوده

اهمیت دارد (شارون و همکاران، ۲۰۰۱) و فاقد آلودگی‌های زیست‌محیطی نیز می‌باشند (هارمن و همکاران، ۲۰۰۴).

قارچ *Trichoderma harzianum* Rifai 1969 یکی از عوامل مفیدی است که می‌تواند با پارازیت‌ها کردن تخم، لارو و 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 والرینج، ۱۹۹۴؛ وان لون و وان استرین، ۱۹۹۹). عکس‌العمل‌های دفاعی گیاه ممکن است به صورت 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 به وسیله 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<sup>۱</sup> در اطراف منطقه تغذیه نماتد در اثر تجمع مواد فنلی در سلول‌های پارانشیمی میزبان می‌باشد که مرتبط با پاسخ‌های دفاعی گیاه هستند (والث و همکاران، ۱۹۹۸). مواد فنلی به همراه سایر آنزیم‌ها و مواد دفاعی نظیر پراکسیدازها، پلی‌فنل اکسیداز در مقاومت علیه بیمارگرهای گیاهی خصوصاً نماتدها به صورت 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، ۱۹۹۶). 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<sup>۲</sup> 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، ۱۹۹۴). 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 ۱۰<sup>۰</sup> 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 می‌زند 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 اثر جدایه قارچ *Trichoderma harzianum Bi* روی تحریک مقاومت سیستمیک گوجه‌فرنگی (به‌ویژه القاء ترکیبات فنلی) در گلخانه با استفاده از روش تقسیم ریشه و

آزمایش ابتدا بذور گوجه‌فرنگی رقم کینگ استون با وایتکس ۱۰ درصد (حاوی ۵ درصد هیپوکلریت سدیم و به مدت 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 به مدت ۳۰ دقیقه) در اتوکلاو کشت گردید. پس از آماده شدن گیاهچه‌ها در مرحله ۶ 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) (آگالو و مک لور، ۱۹۹۶). به یک نیمه ریشه قارچ *Trichoderma harzianum* با غلظت  $10^6$  اسپورقارچ در میلی‌لیتر آب مقطر به روش سوسپانسیون اسپور<sup>۵</sup> به مدت ۵ دقیقه مایه‌کوبی شد (برای چسبیدن بهتر اسپور به ریشه گیاهچه‌ها از ماده کربوکسی متیل سلولز به میزان یک گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور استفاده 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 هیتراکواریمومی 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 به مدت ۷ روز متوالی (منظور فقط اندازه‌گیری ترکیبات فنلی در مرحله نفوذ لاروسن 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

ارزیابی میزان تغییرات ترکیبات فنلی تولید شده قابل حل در متانول در طول مدت رشد قارچ *Trichoderma* و نماتد مولد گره ریشه در زمان‌های مختلف پس از مایه‌کوبی در ریشه و ساقه گوجه‌فرنگی رقم کینگ استون<sup>۱</sup> 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 به صورت خالص تهیه شد. با استفاده از مشخصات الگوی انتهای بدن ماده<sup>۲</sup> شناسایی انجام گرفت (جیپسون، ۱۹۸۷). ابتدا تکثیر روی گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی رقم حساس ارلی اوربانا<sup>۳</sup> و روما.وی.اف<sup>۴</sup> صورت گرفت. گیاهچه‌ها به مدت 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* به دست 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

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

۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۸۰ میکروگرم کافئیک اسید وجود دارد. برای صفر کردن دستگاه از محلولی که فاقد کافئیک اسید بوده استفاده گردید.

کلیه آزمایش‌های بررسی اثر قارچ تریکودرما در سیستمیک شدن محتویات فنلی بر علیه نماتد مولد گره ریشه به صورت فاکتوریل با دو عامل زمان نمونه‌برداری در ۷ سطح (متعلق به هفت روز) و عامل تیمار نماتد و تیمار قارچ و شاهد در سه سطح در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد و مقایسه میانگین داده‌ها براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد در نرم افزار SAS و رسم تمامی نمودارها در نرم افزار Excel انجام گرفت.

## نتایج

بررسی نتایج آزمایش اثر قارچ *T. harzianum* جدایه Bi در سیستمیک شدن ترکیبات فنلی ایجاد شده بر علیه نماتد در ریشه گوجه‌فرنگی در دو تیمار اندازه‌گیری شد:

**الف- نیمی از ریشه با نماتد مایه‌زنی شد:** در این تیمار میزان فنل کل در روز اول تا سوم با شاهد خود اختلاف معنی‌دار داشته ( $P \leq 0.05$ ) و در روز چهارم با افزایش ناگهانی (از کلاس آماری gh به m افزایش یافت)، اختلاف قابل توجه بوده است و حداکثر میزان فنل کل در روز هفتم بعد از مایه‌زنی (۰/۶۱۲ میکروگرم در گرم عصاره ریشه) اندازه‌گیری شد. در گیاهان شاهد (نیمی از ریشه با نماتد و نیمی دیگر بدون مایه‌زنی) در طی روزهای متوالی اختلاف معنی‌دار وجود داشت (جدول ۱).

**ب- نیمی دیگر از ریشه با قارچ مایه‌زنی شد:** در این تیمار از روز اول میزان فنل کل با شاهد اختلاف معنی‌داری داشت و در روز چهارم به‌طور ناگهانی افزایش یافت و حداکثر میزان آن (۰/۶۳۳ میکروگرم در گرم عصاره ریشه) در روز ششم بعد از مایه‌زنی بود و به تدریج در روز هفتم (از کلاس آماری q به n) کاهش

سانتی‌متر ابتدای ساقه گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی به مقدار یک گرم بافت ساقه به مدت ۷ روز متوالی و به فاصله یک روز نمونه‌برداری انجام شد. عصاره‌گیری از نمونه‌های ساقه در ظرف یخ انجام شد و نمونه‌ها تا موقع مصرف در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد (محمدی و کاظمی، ۲۰۰۲) نگهداری شدند.

**طرز استخراج فنل از گیاه:** یک گرم بافت گیاه (اعم از ریشه یا ساقه) را در هاون چینی له کرده و ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به آن اضافه کرده و کاملاً مخلوط گردید. عصاره حاصل از دو لایه پارچه ملامل عبور داده و در شیشه‌های مک کارتی نگهداری شد. سپس عصاره به‌دست آمده در ۴۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردید و تا موقع مصرف در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (محمدی و کاظمی، ۲۰۰۲).

**اندازه‌گیری میزان تغییرات فنل کل:** میزان مواد فنلی موجود در عصاره ریشه‌ها و ساقه توسط معرف فولین اندازه‌گیری شد (اعتباریان، ۱۹۸۹). در لوله آزمایش ۷ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته و مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره ریشه به آن اضافه نموده سپس ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فولین به آن اضافه شد و کاملاً مخلوط گردید. ۳ دقیقه بعد یک میلی‌لیتر کربنات سدیم اشباع به محتوی لوله اضافه و مجدداً خوب مخلوط گردید. بعد از یک ساعت میزان جذب رنگ در طول موج ۷۲۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل اسپکترونیک ۵۰۱ قرائت گردید.

**منحنی استاندارد و معادله رگرسیون:** ماده کافئیک اسید<sup>۱</sup> به‌عنوان معیار مقایسه مواد فنلی مورد استفاده قرار گرفت (اعتباریان، ۱۹۸۹). ۱۰ میلی‌گرم کافئیک اسید را با ۵ میلی‌لیتر متانول خالص حل کرده و حجم آن با آب مقطر به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس مقادیر ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ۴، ۶ و ۸ میلی‌لیتر از محلول جداگانه در لوله آزمایش ریخته و حجم آنها با افزودن آب به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. به این ترتیب در ۰/۵ میلی‌لیتر از آنها به‌ترتیب ۵، ۱۰، ۲۰،

( $P \leq 0.05$ ) داشت و حداکثر میزان فنل کل (0.579) 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).

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



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.

۱	۲	۳	مایه‌زنی ۴	روز بعد از ۵	۶	۷	
0.085 <sup>b</sup>	0.125 <sup>c</sup>	0.152 <sup>de</sup>	0.196 <sup>gh</sup>	0.477 <sup>m</sup>	0.594 <sup>fop</sup>	0.612 <sup>pq</sup>	بخش اول
0.141 <sup>cd</sup>	0.17 <sup>ef</sup>	0.214 <sup>hi</sup>	0.433 <sup>l</sup>	0.579 <sup>o</sup>	0.633 <sup>q</sup>	0.551 <sup>n</sup>	بخش دوم
0.144 <sup>cd</sup>	0.184 <sup>fg</sup>	0.224 <sup>i</sup>	0.434 <sup>l</sup>	0.581 <sup>o</sup>	0.599 <sup>op</sup>	0.656 <sup>r</sup>	بخش سوم
0.06 <sup>a</sup>	0.09 <sup>b</sup>	0.13 <sup>cd</sup>	0.184 <sup>fg</sup>	0.217 <sup>hi</sup>	0.25 <sup>j</sup>	0.28 <sup>k</sup>	بخش چهارم

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

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

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

بخش چهارم (شاهد ۲): نیمه اول ریشه بدون مایه‌زنی - 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

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.

۱	۲	۳	مایه‌زنی ۴	روز بعد از ۵	۶	۷
۰/۰۵۲ <sup>a</sup>	۰/۱۱۲ <sup>b</sup>	۰/۱۴۴ <sup>c</sup>	۰/۱۸۶ <sup>d</sup>	۰/۳۴۲ <sup>e</sup>	۰/۳۷۵ <sup>f</sup>	۰/۱۶۲ <sup>c</sup> مایه کوبی بانماتد- قارچ
۰/۰۲۶ <sup>a</sup>	۰/۰۳۱ <sup>a</sup>	۰/۱۰۵ <sup>b</sup>	۰/۲۸۴ <sup>c</sup>	۰/۴۴۳ <sup>d</sup>	۰/۴۸۸ <sup>e</sup>	۰/۵۷۹ <sup>f</sup> بدون مایه کوبی- 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.

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 مسالمت‌آمیز با میزان به تدریج میزان فنل کل کاهش می‌یابد (حداکثر میزان فنل کل در روز ششم، ۰/۶۳۳ میکروگرم در میلی‌لیتر عصاره ریشه و کلاس آماری *q* به میزان ۰/۵۵ میکروگرم و کلاس آماری *n* در روز هفتم کاهش یافت) (جدول ۱). چنین به‌نظر می‌رسد که تنها ترکیبات فنلی نقش مؤثری در مقاومت میزان 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) و اوگالو و مک لور (۱۹۹۶) 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، ۲۰۰۴). در مورد نتایج اثر جدایه *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 القایی سیستمیک در گیاهان توتون و گوجه‌فرنگی براساس تحقیقات انجام شده نشان داد که وابسته به تولید پروتئین‌های اختصاصی هستند که در ارتباط با پدیده

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).

بیماری‌زایی و سیستمیک شدن در گیاه تشکیل می‌شود (وان لون و وان استرین، ۱۹۹۹). تاکنون این قبیل پروتئین‌ها در ۱۴ 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

## 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 these 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, avirulent 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 evolution 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. Klopffer, 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 management 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 *Rhizopholus 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 pathogenesis – 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 against the tomato resistance gene Mi in *Meloidogyne incognita*, *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.

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

\*H. Maleki Ziarati<sup>1</sup>, N. Sahebani<sup>2</sup>, K. Rahnama<sup>3</sup> and N. Noori<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Former M.Sc. student, Dept. of Plant Protection, Abouryhan Completex, University of Tehran, Iran,

<sup>2</sup>Assistant Prof., Dept. of Plant Protection, Abouryhan Compelex, University of Tehran, Iran,

<sup>3</sup>Associate Prof., Dept. of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, <sup>4</sup>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 length 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.