تاثیر داروی رزوراترول در القاء مقاومت دو رقم گوجه‌فرنگی ترمه و کاپتین نسبت به بیماری پژمردگی فوزاریومی

چکیده

کنترل بیولوژیکی بیماری های گیاهی با استفاده از فیتو هورمون ها یا متابولیت های ثانویه گیاهی یکی از اهداف نیل به کشاورزی پایدار می باشد. در این تحقیق تاثیر داروی رزوراترول در القاء مقاومت دو رقم گوجه فرنگی به بیماری پژمردگی فوزاریومی در شرایط گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. از رقم های تجاری کاپتین و ترمه و همچنین جدایه استاندارد قارچ *Fusarium oxysporum* Fsp *Lyopersici* در قالب طرح بلوک های کاملا تصادفی و با چهار تکرار استفاده گردید. گیاهچه ها دو مرتبه با غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میکروگرم/میلی‌لیتر از داروی رزوراترول در مرحله ۶-۴ برگی محلول پاشی شدند. چند صفت ، میزان تغییر در فعالیت تعدادی از آنزیم‌های دفاعی مانند کاتالاز، پلی‌فنل اکسیداز، پراکسیداز و فنل کل و بیان تعدادی از ژن های دخیل در مقاومت و پاسخ های دفاعی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج این آزمایش اختلاف معنیدار رشدی بین تمام تیمارها با شاهد به ویژه در تیمار ۱۵۰ میکرو ٔگرم/میلی‌لیتر از رزوراترول را نشان داد. به طور متوسط بیشترین میزان تغییرات آنزیمی در رقم ترمه آلوده به بیماری می باشد. بررسی بیان ژن ها نشان داد که بیشترین میزان بیان ژن مربوط به ژن *Npr1* .و در رقم کاپتین. می باشد. نتایج این تحقیق نشان می دهد که داروی رزوراترول می تواند به عنوان یک القاء کننده مقاومت به تنش بیماری مورد استفاده قرار گیرد هر چند در مقایسه با القاگرهای متداول دیگر در بیماری شناسی مانند اسید سالیسیلیک و جاسمونیک اسید اثر کمتری دارد.

کلمات کلیدی: بیماری گیاهی

ویراستاری نشده

The effect of resveratrol drug on reduce resistance of two captaian and termeh tomato cultivar aginst fusarium wiltin disease

Abstract

Biological control of plant disease using ohytohormenes and secondry metabolit is goal of sustainable agriculture. In this research the effect of Resveratrol drug on reduce resistance in tow tomato cultivar against fusarium wilting disease in greenhouse condition was investigated. Comercial captain and Termeh cultivar and *Fusrium oxysporum* fsp. *lycopersici* isolate was used in randomized block design with four repetition. Tow 100 and 150 µg/mL concentration of Resveratrol in 3-4 leaf stage were applied for this test. Some of the ghtand also the change of some defense enzymes activity such as catalase, Prixidase, polyphenoloxidase and total phenol and some genes involve in plant resistance measured. The results showed a significant different of growth parameters between all treatments in compared to control especially at 150 µg/mL concentration of resveratrol. But the highest rate change of enzyme activity was observed in infected Termeh cultivar. The high expression gene was concerned to Npr1 in Captian cultivar. The results of this research show that resveratrol drug could be used as a resistance inducer to disease stress. Althout in compare to other resistance inducer as salicylic acid and jasmonic acid in plant pathology has less efficiency

Keywords: *Plant disease, , ,*

ویراستاری نشده

مقدمه

گوجه فرنگی(*Solanum lycopersicum*, Solanaceae) از گیاهان عالی گلدار دو لپه، و دارای واریته های بسیار متفاوت و متنوع از نظر ارزش غذایی، شرایط کشت وکیفیت میوه و مقاومت به آفات و بیماری های گیاهی می باشد(Sabrol & Satish, 2016). این محصول در حال حاضر در بازار میوه و تره‌بار بعد از سیب‌زمینی، کاهو و پیاز، چهارمین سبزی از نظر محبوبیت در میان مصرف‌کنندگلن سبزی و صیفی می‌باشد. با توجه به نقش حرارت و رطوبت در کشت گوجه فرنگی به ویژه در شرایط گلخانه، این محصول همواره مورد هجوم بیماری های مختلفی قرار می گیرد که در میان بیماری های قارچی یک از مهمترین عوامل مخرب و محدود کننده تولید این محصول در ایران و دنیا به حساب می آید.

بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی ناشی از قارچ *Fusarium oxysporum* f. Sp l*yopersici* یکی از بیماری های مخرب این گیاه به ویژه در گلخانه ها می باشد که باعث کاهش کمیت و کیفیت محصول می شود(Zhou et Hernández-Aparicio et al., 2021 ; al., 2021). استفاده از سموم شیمیایی یکی از رایجترین روش های کنترل بیماری در گلخانه ها می‌باشد که علاوه بر هزینه‌های بالا و خطرات زیست محیطی ناشی از مصرف سموم، باقیمانده سم نیز می تواند باعث ایجاد بیماری های خطرناکی در انسان شود. استفاده از ترکیبات ثانویه گیاهی و فیتوهورمون ها در کنترل بیماری های گیاهی مورد توجه تولید کنندگان و مصرف‌کنندگان گیاهان ارگانیک قرار گرفته است (Lahlali et al., 2022). استفاده از ترکیباتی نظیر اسید سالیسیلیک، جاسمونیک اسید و اتیلن در افزایش مقاومت گیاهان آلوده به بیماری های گیاهی گزارش شده است. مطالعات نشان داده است که کاربرد ترکیبات استیلبین ها مانند اسپرمیدین نقش موثری در افزایش مقاومت گیاه گوجه فرنگی به بیماری پژمردگی فوزاریومی در شرایط گلخانه داشته است (Sabbagh et al., 2020). در بین ترکیبات هورمونی نیز ترکیباتی مانند استریگولاکتون ها علاوه بر افزایش جوانه زنی اسپور میکوریزها در افزایش مقاومت گوجه فرنگی الوده به فوزاریوم موثر بوده است (Mirrahimi et al., 2023).

پیشینه تحقیق

نقش عوامل و مواد تقویت کننده رشد گیاهی در سراسر دوره رشدی و زندگی گیاهان به اثبات رسیده است. در حال حاضر این مواد در کشاورزی برای اهداف مختلفی از قبیل به تاخیر یا به جلو انداختن رسیدن میوه، ریشه‌دهی، تسریع در ریزش برگ، گل و میوه، مهار علف‌های هرز، مهار اندازه قسمت‌های مختلف گیاه به کار برده می‌شوند (; Kang et al., 2022Basra, 2000) . تاثیر مستقیم رزوراترول بر روی عوامل بیماریزا به ویژه قارچها و باکتریها و همچنین نقش این دارو در القاء مقاومت به بیماریهای قارچی بر روی محصولات کشاورزی تعیین نشده است هر چند در حضور عوامل بیماریزا میزان تولید ان افزایش یافته است.رزوراترول، یک نوع فنل طبیعی از کلاس استیلبن ها که توسط چندین گیاه در پاسخ به آسیب یا زمانی که گیاه مورد حمله عوامل بیماری زا، مانند باکتری ها یا قارچ ها قرار می گیرد، تولید می شود (Dubrovina & Kiselev, 2017). رزوراترول در محصولات و منابع غذایی اصلی انسان (بادام زمینی، کره بادام زمینی، انگور و شراب قرمز) وجود داشته و به راحتی جذب می شود. این ترکیب دارای ساختمانی است که با ایجاد فعالیت آنتی اکسیدانی می تواند مرگ سلولی ناشی از اکسیدان و اکسیداسیون لیپوپروتئین با چگالی کم (Low density lipids) را کاهش دهد (Kang *et al.*, 2022). . و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در شرایط رشدی طبیعی، باعث ایجاد مقاومت گیاه دربرابر انواع مختلف تنش‌های زیستی از جمله بیماری های گیاهی می شوند. آنزیم HD کاتالاز و پراکسیداز به عنوان یک آنتی اکسیدان قادراند یون های پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آزاد را که در وضعیت فعالیت های مقاومتی گیاه افزایش می‌یابند، کنترل و گیاه را در مقابل صدمات آنها محافظت نمایند (Gomes *et al.*, 2022). آنزیم پلی فنل اکسیداز نیز با تشکیل موادی نظیر کینون‌ها از ترکیب مواد فنلی، قادر به افزایش مقاومت از طریق کاهش رشد پاتوژن‌ها و توسعه آن ها در گیاهان تحت تنش شوند (Mirzamasoumzadeh *et al.*, 2013). ژن *Npr1* از خانواده فاکتورهای نسخه برداری بوده که ارتباط مستقیمی در بیان ژن های

مرتبط با القاء مقاومت سیستمیک در گیاهان در هنگام مواجه شدن با تنش‌های زیستی و در نهایت افزایش مقاومت دارد (Backer *et al.*, 2019). این ژن نقش مهمی در تولید پروتئین‌های مقاوتی به ویژه در تاثیر گذاری هورمون‌های گیاهی از جمله اسید سالیسیلیک و جیبرلیک اسید دارد و باعث فعال نمودن مسیرهای ژنی دخیل در مقاومت سیستمیک می‌شود (Zavaliev & Dong, 2023). در گیاه گوجه فرنگی نیز این ژن برای مقاومت به دامنه وسیعی از بیمارگرها (قارچی، باکتریایی و ویروسی) مورد نیاز می‌باشد است (Hu *et al.*, 2005). ژن *Eds1* درمسیر پیام رسانی مکانیسم های مقاومتی، در پایین دست ژن های R قرار گرفته و در بالادست مسیرهای علامت دهی ژنه‌ای مقاومتی قرار دارد و مکانیسم‌های این ژن ها را فعال می‌کند (Wiermer, 2005). تولید رنگدانه‌های کارتنوئیدی در گوجه فرنگی به وسیله ژن *PDS* کنترل می‌شود و از طریق تولید آنزیم فیتون واسرشت ساز این مکانیسم کنترل و اجرا می‌شود که نقص در تولید این ماده در حالت بیماری می‌تواند منجر به ایجاد زردی در میوه گوجه فرنگی شود (Orzaez et al., 2006)در این تحقیق الفا مقاومت سیستمیک در گیاه گوجه فرنگی تحت تنش بیماری پژمردگی فوزاریمی با کاربر ماده رزوراترول مورد بررسی قرار گرفت و بررسی تغییرات مقاومتی با استفاده از چندین نشانگر بیوشیمیایی و مولکولی مورد بررسی قرار گرفت.

روش شناسایی پژوهشی

کاشت گیاه

در این پژوهش از دو رقم گوجه فرنگی ترمه (شرکت زرین دان جنوب) و کاپتین (شرکت یوکسل ترکیه) استفاده گردید. در ابتدا لایه قارچکش بذر با استفاده از هیپوکلرت سدیم ۱٪ برداشته شد و سپس سه مرتبه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند و در زیر هود بیولوژیک بر روی کاغذ واتمن استریل خشک شدند. بذرها در سینی های سخت پلی استرونی حاوی خاک پیت ماس و کوکوپیت استریل کاشته و در ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت ۷۵ درصد نشاء گوجه فرنگی تولید شد و نشاها در مرحله ۲ برگی به گلدان‌های پلاستیکی حاوی خاک پیت ماس و کوکوپیت استریل با قطر ۱۸ سانتی متر منتقل شدند و به صورت مرتب با آب شیر آبیاری صورت گرفت. در مرحله پنجه‌دهی تعداد بوته در هر گلدان با تنک کردن به ۱ بوته رسید.گیاهان در داخل گلخانه ای شیشه ای با دامای ۲۵ درجه نگهداری و رطوبت گلخانه با استفاده از دستگاه مه‌پاش به ویژه در مراحل اولیه بیماری تا زمان نمونه برداری تامین گردید.

. تهیه محلول رزوراترول

ماده رزوراترول با وزن مولکولی ۲۲۸/۲۵ گرم/مول برای بررسی القا کنندگی مقاومت در گیاهان بیمار مورد استفاده قرار گرفت. از حلال آب برای حل قرص ترانس رزوراترول (Hexagon, France) با غلظت اولیه ۵۰۰ میلی گرم در حلال آب استفاده و غلظت محلول بر حسب مولار تهیه و سپس غلظت های ۱۰۰ و ۱۵۰ میکرومولار جهت اسپری برگی تهیه گردید. از روغن توئین ۲۰ برای محلول پاشی استفاده گردید. با استفاده از یک مه پاش عمل اسپری دارو بر روی گیاهان قبل از تلقیح بیماری در مرحله ۴-۶ برگی ، دو مرتبه انجام گردید.

تهیه مایه تلقیح قارچ

از جدایه استاندارد قارچ *F. graminearum* fsp. *lycopersici* برای انجام بیماریزایی استفاده شد.جدایه قارچی در ابتدا روی رقم حساس گوجه‌فرنگی تست بیماریزایی شده و نمونه قارچی جداسازی مجدد گردید. قارچ بیمارگر فوزاریوم روی محیط کشت برگ میخک– آگار کشت و به مدت یک هفته در انکوباتور با دمای ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری گردید. اسپورهای تولید شده قارچ بر روی محیط کشت شسته شده و پس از عبور از پارچه ململ، اسپورها در ظرف سترون جمع و نگهداری شدند. غلظت و تعداد اسپورها در محلول با استفاده از لام هماسیتومتر تعیین و غلظتی از اسپور به میزان 10^7 اسپور در هر میلی‌لیتر تهیه گردید. در مرحله ۴ برگی، به

منظور بیماریزایی در ابتدا با استفاده از یک اسکالپل استریل زخم کوچکی در ناحیه 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) و سپس نمونه برداری از برگ گیاه در مقاطع زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از تلقیح قارچ عامل بیماری انجام جهت تهیه عصاره گیاهی بافت برگ‌ها در داخل بافر عصاره‌گیری شامل فسفات پتاسیم ۰/۵ میلی مولار (pH=۷)، EDTA (۰/۱ 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 (Celep et al., 2019).

سنجش میزان فنل کل برگ

از ماده اسید گالیک برای بررسی میزان تغییرات فنل و تهیه منحنی استاندارد استفاده شد. بدین منظور، 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 ۱ 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 (Temraz and Tantway, 2008).

سنجش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

به منظور تهیه عصاره در گیاهان بیمار و شاهد مقدار ۲۰۰ میلی گرم از بافت گیاهی را با محلول عصاره‌گیری (۱۶۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم با PH= ۶/۸ ، ۲۰ میکرولیتر ۰/۱EDTA مولار و ۳۸۰ میکرولیتر آب مقطر) ترکیب و در هاون چینی سرد خرد و مخلوط یکنواختی ایجاد شد. سپس به مدت ۲۵ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ از فاز بالایی عصاره برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد (Gong et al., 2001).

تعیین فعالیت آنزیم کاتالاز

جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز در ابتدا در یک محلول واکنش به حجم ۳ میلی لیتر، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۱ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم (۱۰۰ میلی مولار (PH= ۷)، ۲۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۵۰ میلی مولار (PH= ۷) و ۱۵۰۰ میکرو لیتر آب مقطر اضافه شد. فعالیت آنزیم کاتالاز در مدت زمان ۱۸۰ ثانیه و بر حسب Abs/min با طول مج ۲۴۰ نانومتر اندازه گیری شد. در نهایت میزان فعالیت آنزیمی بر حسب میکرومول پراکسید هیدروژن مصرف شده در دقیقه در واحد گرم وزن تر گیاه محاسبه گردید. (Paudel et al., 2010).

تعیین فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز

جهت سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز به ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی،۴۰۰ میکرولیتر بافر تریس ۰/۲ مولار (PH= ۷/۶) ، پیروگالول۰/۰۲ مولار به میزان ۱ میلی‌لیتر، ۵۰۰ میکرولیتر آب مقطر و اضافه شد. فعالیت آنزیم با اضافه کردن پیروگالول به مخلوط واکنش شروع شد. فعالیت آنزیم در طول موج ۴۲۰ نانومتر طیف سنج در زمان‌های ۶۰ و ۱۲۰ ثانیه پس از افزودن پیروگالول اندازه‌گیری شد (Kar and Mishra, 1976).

تعیین فعالیت آنزیم پراکسیداز

سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز با استفاده از معرف گایاکول به عنوان سوبسترا با توجه به میزان افزایش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتراندازه گیری شد. در محلول واکنش به حجم ۱ میلی لیتر، ۴۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۲۵ میلی مولار (PH= ۷/۶)، ۳۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱۰ میلی مولار، معرف گایاکول ۳ میلی مولار اضافه شد. مقدار ۱۰ میکروگرم از پروتئین کل به محلول واکنش اضافه گردید و میزان جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۵ دقیقه مورد بررسی و اندازه گیری قرار گرفت. مقدار آنزیم پراکسیداز بر حسب میکرو مول در دقیقه در میلی گرم از پروتئین اندازه گیری شد (Haplin & Lee, 1987).

آنالیز بیان ژن

جهت اندازه گیری میزان تغییرات بیان ژن در این آزمایش، در ابتدا مقدار ۵۰ گرم از برگ گیاهان تیمار شده و شاهد مورد استفاده قرار گرفت. استخراج مولکول‌های اسید نوکلئیک با استفاده از کیت کیاژن (Qiagene, Germany) انجام شد. رشته اول DNA از ملکول های mRNA با استفاده از کیت تجاری(Vivantis, Cinngene) 2-Steps RT-PCR kit ساخته شد. کمیت و کیفیت مولکول های cDNA به ترتیب با استفاده از دستگاه طیف سنج (Nanodrop1000, Thermo Scientiic) و ژل آگارز ۱٪ مورد ارزیابی قرار گرفت. مقدار ۵۰ نانو گرم از cDNA برای انجام آنالیز بیان ژن مورد استفاده قرار گرفت. آغازگرهای مورد استفاده برای qRT-PCR توسط نرم افزار آنلاین Primer3 (http://Fokker.wiPrimer3.mit.deu/primer3/input.htm) طراحی و توسط شرکت سیناژن ساخته شد (جدول ۱). واکنش qRT-PCR در حجم ۲۰ میکرو لیتر شامل ۲ میکرو لیتر cDNA(50 ng/µl)، ۲ میکرو لیتر از مخلوط دو آغازگر (20µM)،۴ میکرولیتر از Mastermix (Hot Tag EvaGreen, Cinnagene Iran) و با استفاده از دستگاه کوربت (HRM3500, Curbet, Australia) با برنامه دمایی ۹۵°C به مدت ۵ دقیقه جهت واسرشت سازی اولیه و به دنبال آن ۳۵ چرخه حرارتی شامل ۹۵°C برای ۳۰ ثانیه، ۵۹ °C برای ۳۰ ثانیه و ۷۲ °C به مدت ۳۰ ثانیه انجام شد. سه تکرار بیولوژیک و سه تکرار تکنیکی برای هر تیمار انجام شد.

جدول۱: مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در این تحقیق

ژن	۵'-۳'		اندازه محصول واکنش PCR(bp)
Non-expressor of pathogenesis-related (*Npr1)*	F- GAGGCTGTTGCACGATC R-GCTCTTGTACTCAGGCCAA	59/2°C	450
Enhanced Disease Susceptibility (*Eds1*)	F-GTTGAGAATCCAGATGCTGT R-ACGAAGACACAACCTTGCTC	59°C	414
Phytoene desaturase (*Pds*	F-GCCATTTGAAGCCGATGTCAC R-AGATAACCTTCACCCGGTTGC	59.5°C	409

اندازه گیری صفات زراعی گیاهچه

به منظور آنالیز صفات زراعی بوته‌های گوجه فرنگی کشت شده در تیمارهای مختلف بوته‌های گوجه فرنگیگیاهان بعد از نمونه برداری در مرحله ۶ برگی تحت شرایط گلخانه در دمای ۲۸ درجه سلسیوس به مدت ۳۵ روز نگهداری و آبیاری شده و سپس به آزمایشگاه انتقال داده شد و صفاتی شامل ارتفاع اندام هوایی و زمینی، وزن‌تر و خشک اندام های هوایی و زمینی با استفاده از ابزارهایی مثل خط‌کش و ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد و معنی دار بودن تأثیر بر این صفات با مقایسه مقدار میانگین این صفات توسط نرم افزارهای Excel و Spss با بوته‌های شاهد انجام گردید.

آنالیز آماری

پس از بررسی نرمال بودن داده ها با روش کلموگروف-اسمرینوف، تجزیه واریانس داده ها بر اساس آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 تحت آنالیز واریانس یکطرفه قرار گرفتند و میانگین ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. $P < 0.05$ بعنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد و نمودارها توسط نرم افزار Excell رسم گردیدند. آنالیز داده های بدست آمده برای بررسی بیان ژن به روش کمی با روش $\Delta\Delta Ct$ انجام گردید (Pfaffl, 2001).

نتایج**تجزیه واریانس صفات مربوط به فعالیت آنزیمی در دو بازه زمانی بعد از آلودگی**

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که در تمام شاخص‌های اندازه‌گیری شده به جز صفت فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز طی ۴۸ ساعت سپری شده از آلودگی، تاثیر انفرادی مولفه‌های رقم، بیماری و رزوراتول معنی‌دار بوده است. همچنین تاثیر تیمار انفرادی رقم بر فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز طی ۴۸ ساعت سپری شده از آلودگی نیز معنی‌دار نبود. در برهمکنش دوتایی مولفه‌ها، برهمکنش بیماری×رزوراتول و رقم×رزوراتول تاثیر معنی‌داری بیشتری (تعداد بیشتر حالت‌های معنی‌دار در سطوح خطای ۵٪ و ۱٪) نسبت به برهمکنش رقم × بیماری بر شاخص‌های اندازه‌گیری شده داشت. با اینحال برهمکنش معنی دار هر سه تیمار تنها بر محتوای فنل کل طی سری شدن ۷۲ ساعت بعد از آلودگی مشاهده شد .

جدول۱- تجزیه واریانس شاخص‌های فعالیت آنزیمی پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و کاتالاز و محتوای فنل تام در ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از آلودگی فوزاریومی در دو رقم ترمه و کاپیتان تحت کاربرد خارجی رزوراتول آلودگی با قارچ *Fusarium oxysporum* fsp *lycopercisi*

منابع تغییرات	درجه آزادی	پراکسیداز		پلی فنل اکسیداز		کاتالاز		محتوای فنل	
		۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت	۴۸ ساعت	۷۲ ساعت
بیماری	۱	۵/۰۸ *	۲۷/۸۲ **	۰/۰۰۰۱ ns	۷۳/۷۹ **	۹۲/۶۴ **	۷۲/۲۲ **	۱۴۲۶/۶۹ **	۲۰/۰۸۱ **
رزوراتول	۲	۴۸/۰۱ **	۴۳۴/۱۶ **	۰/۰۰۰۱ ns	۳۲۵۲/۱ **	۴۹۱/۱۵ **	۱۰۶۰/۴۷ **	۲۹۲۵/۶۷ **	۶۲۶/۱۸ **
رقم	۱	۸/۲۱ **	۹/۱۵ **	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۸۲۳ ns	۱۸۲/۷۷ **	۱۸/۳۳ **	۲۹/۶۹ **	۲۱۷/۱۰ **
بیماری × رزوراتول	۲	۶/۰۵ **	۲۶/۳۱ **	۰/۰۰۲۱ ns	۶۰/۳۵ **	۶/۵۸ **	۲۲/۶۷ **	۳۴۵/۲۷ **	۱۰۱/۳۲ **
رقم × بیماری	۱	۲/۶۷ ns	۰/۶۲۸ ns	۰/۰۰۱۹ ns	۸۲۲/۲۳ **	۱۰/۵۴ **	۱۰/۸۱ **	۰/۴۳۸ ns	۶۲۶/۱۸ **
رقم × رزوراتول	۲	۵/۴۹ *	۳/۶۷ *	۰/۰۰۰۱ ns	۱۳۲/۴۱ **	۳۱/۰۰۳ **	۹/۰۱ **	۶/۰۴ **	۱۳۱/۲۷ **

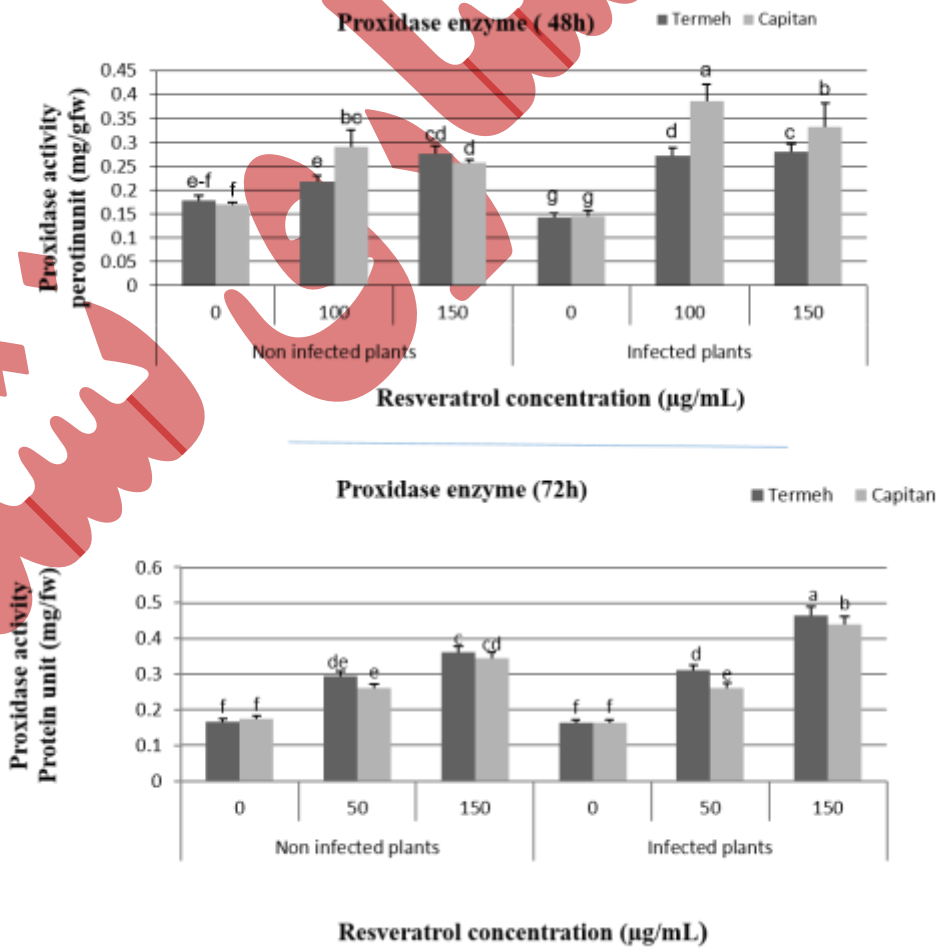
در دست اشاری نشده

بیماری × زوراتول× رقم	۲	۰/۴۶۱ ns	۰/۰۳ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۱۳۳۵/۶ **	۰/۰۸۳ ns	۱/۴۴ ns	۲/۵۲ ns	۱۰۳/۶۰ **
خطا	۲۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۳/۵	۳/۰۳۶	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰/۰۱	۰/۰۳۲
ضریب تغییرات		۰/۳۲	۰/۳۶	۰/۴۲	۰/۴	۰/۵۳	۰/۵۳	۰/۶۷	۰/۵۵

* و ** نشان دهنده معنی داری در سطوح ۵٪ و ۱٪ می باشند. ns نشانه بیانگر عدم ارتباط معنی دار است.

فعالیت آنزیم پراکسیداز

نتایج مربوط به تاثیر داروی رزوراترول بر روی افزایش آنزیم پراکسیداز در دو بازه زمانی پس از آلودگی در دو رقم گوجه فرنگی ترمه و کاپتین با شاهد مورد مقایسه قرار گرفت (شکل۱). غلظت آنزیم پراکسیداز در نمونه شاهد در هر دو رقم و در هر بازه زمانی متغییر می باشد. در نمونه های آلوده به بیماری با کاربرد داروی رزوراترول (با توجه به غلظت) میزان افزایش بیان آنزیم در دو رقم متغیر بود. در بازه زمانی ۴۸ ساعت بعد از آلودگی بیشترین میزان تغییر آنزیم مربوط به غلظت ۱۰۰ میکروگرم/میلی‌لیتر از دارو و در رقم آلوده کاپتان مشاهده گردید. با افزایش غلظت دارو میزان آنزیم در هر دو رقم کاهش یافته است ولی کاهش میزان آنزیم در رقم کاپتین و ترمه یکسان مشاهده نگردید. در بازه زمانی ۷۲ ساعت بعد از آلودگی نیز بیشترین میزان تغییر آنزیم مربوط به غلظت ۱۰۰ میکرومولار از دارو و در رقم آلوده کاپتین مشاهده گردید ولی در غلظت ۱۵۰ میکروگرم/میلی‌لیتر از دارو، میزان تغییرات آنزیم در هر دو رقم تقریباً برابر با هم بود (شکل۱).



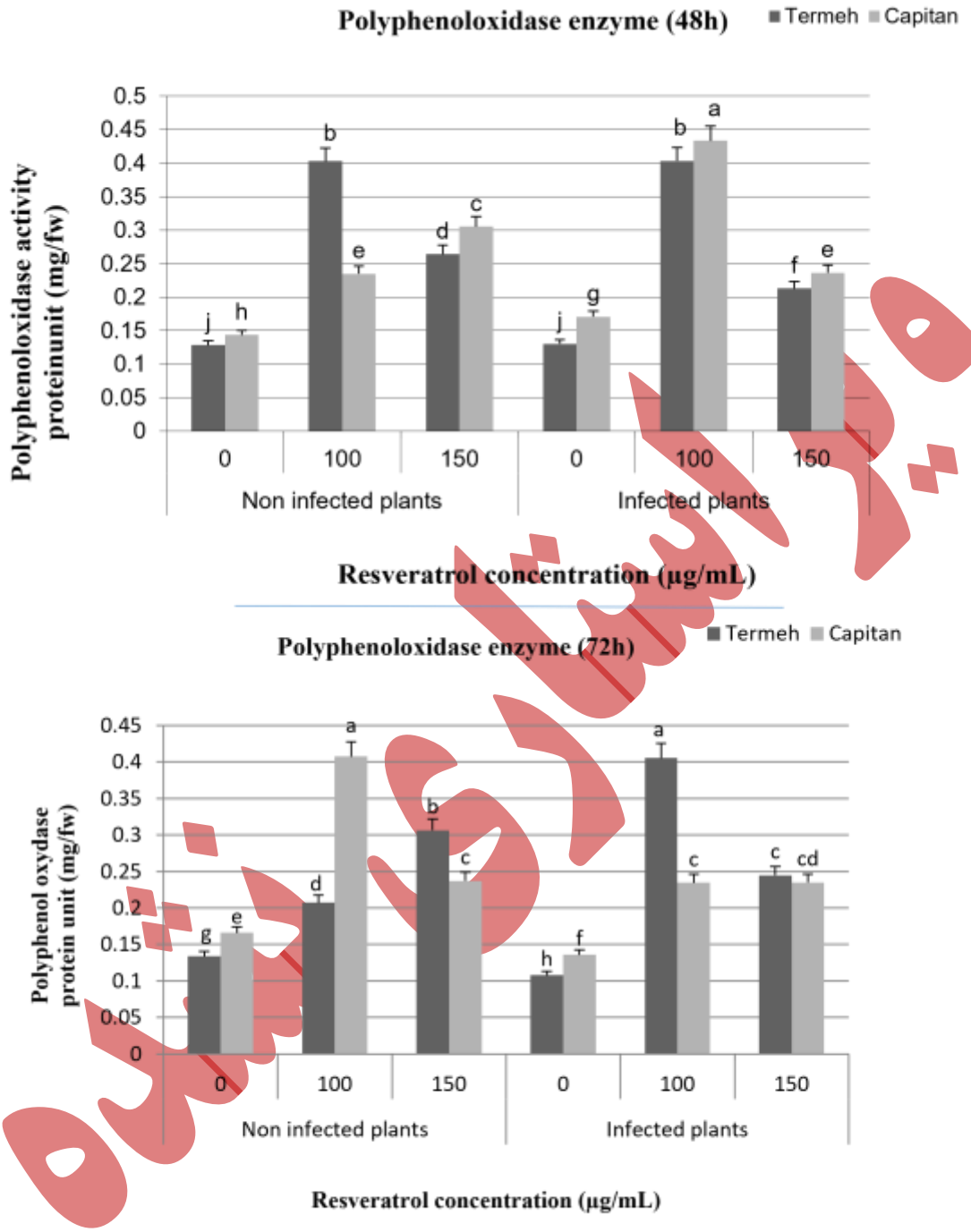
ویراستاری نشده

شکل۱ . تاثیر تیمار داروی رزوراترول بر مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز در دو رقم گوجه فرنگی ترمه و کاپتین با تیمارهای تنش زیستی توسط قارچ . *Fusarum*در دو بازه زمانی بعد از آلودگی :تیمارهایی که با حروف مختلف نشان داده شده اند در آزمون Duncan در سطح ۱درصد دارای اختلاف معنی دار هستند.

فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز

با آلوده سازی گیاهچه ها با عامل بیماری و کاربرد داروی رزوراترول میزان آنزیم پلی فنل اکسیداز نسبت به شاهد افزایش قابل ملاحظه ی نشان داد غلظت این آنزیم در هر دو رقم بین ۰/۴۲- ۰/۲۵یلی گرم در یک گرم از وزن تر گیاه متغییر می باشد (شکل۲).. درگیاهچه‌های الوده به بیماری فوزاریوم میزان آنزیم در هر دو بازه زمانی در غلظت ۱۵۰ میکروگرم/میلی‌لیتر ازداروی رزوراترول بیشتر از غلظت ۱۵۰ بوده و این افزایش در رقم ترمه افزایش بیشتری را نشان داده است

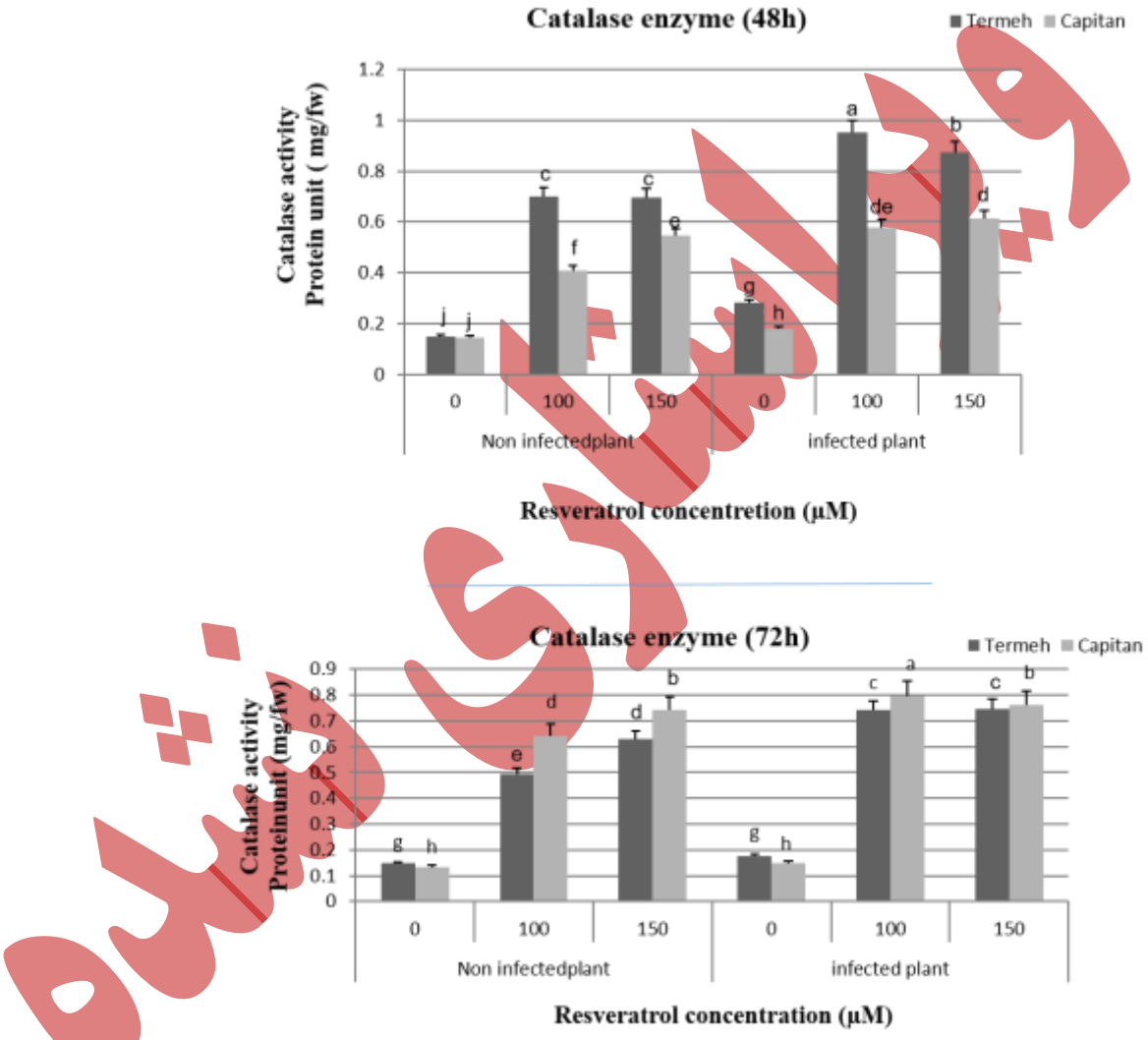
ویراستاری نشده



شکل ۲. تاثیر تیمارهای مختلف رزوراترول بر مقدار فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در دو رقم گوجه فرنگی ترمه و کاپتین با تیمارهای تنش زیستی توسط قارچ *Fusarum oxysporum* fsp. *lycopercisi* در دو بازه زمانی بعد از آلودگی .تیمارهایی که با حروف مختلف نشان داده شده اند در آزمون Duncanدر سطح ۱ درصد دارای اختلاف معنی دار هستند.

فعالیت آنزیم کاتالاز

تغیرات بیانی در میزان آنزیم کاتالاز در ۳ بازه زمانی صفر، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد آلودگی تحت تاثیر داروی رزوراترول در مقایسه با گیاهچه های شاهد در شکل ۳ نشان داده شده است. بیشترین میزان تغییر و افزایش آنزیم در گیاهان آلوده تیمار شده مربوط به بازه زمانی ۴۸ ساعت بعد از آلودگی در رقم ترمه می‌باشد. این میزان افزایش آنزیم بین ۰/۶ تا ۰/۹ برای هر دو غلظت از دارو تعیین گردید که دامنه اختلاف بیان آنزیم در رقم ترمه بیشتر از کاپتین بوده و رقم کاپتین واکنش مشابهی را در هر دو غلظت از داروی رزوراترول از خود نشان داد. در بازه زمانی ۷۲ ساعت بعد از آلودگی اگر چه باز هم رقم ترمه از رقم کاپتین دربرابر داروی رزوراترول تاثیر پذیر بوده است ولی تغییرات درهر دو رقم نزدیک بهم ثبت گردید (شکل ۳).

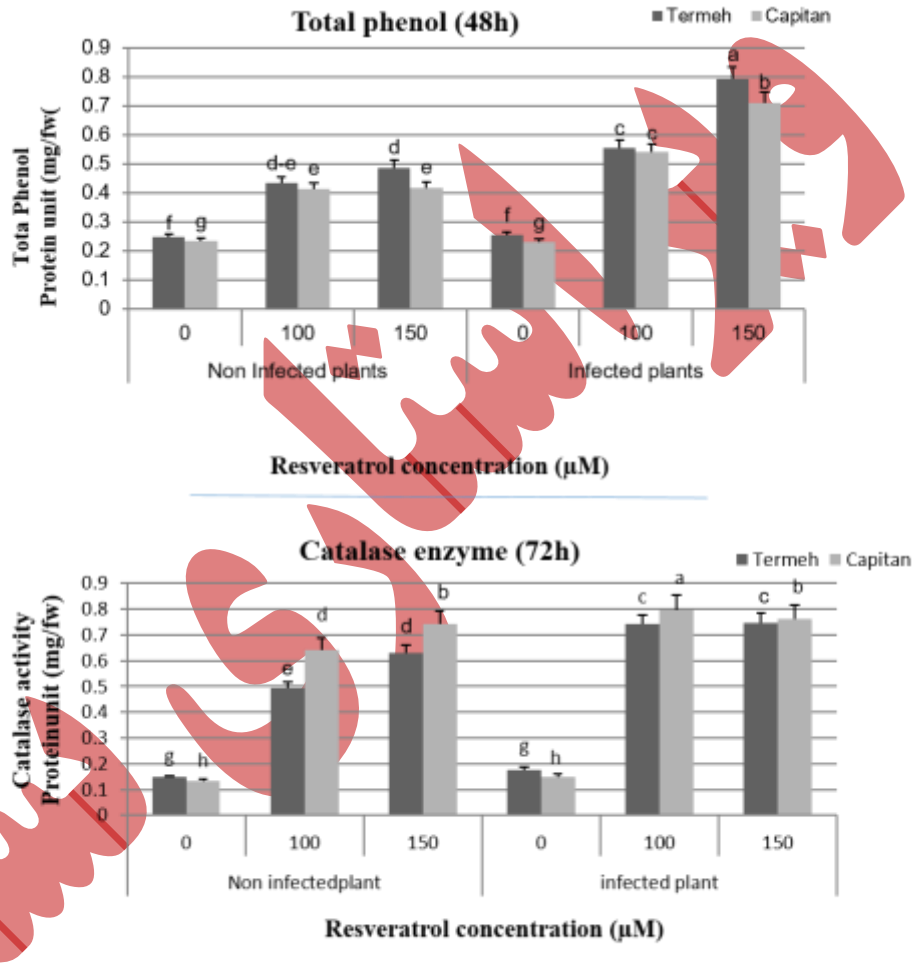


شکل۳. تاثیر تیمار داروی رزوزراترول بر مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز در دو رقم گوجه فرنگی ترمه و کاپتین با تیمار تنش زیستی توسط قارچ *Fusarum oxysporum* f.Sp. *lycopercisi* در ۳ بازه زمانی . تیمارهایی که با حروف مختلف نشان داده شده اند در آزمون Duncan در سطح درصد دارای اختلاف معنی دار هستند.

میزان فنل کل میزان تغییرات فنل کل نشان داد که در هر دو بازه زمانی کاربرد رزوراترول قادر به تغییر این عامل شده است. ولی با تووجه به داده های ثبت شده و نشان داده شده در شکل ۳ چنین بر می آید که با گذشت زمان فنل کلگیاه افزایش قابل توجهی داشته و بیشترین میزان تغییرات نیز مربوط به غلظت ۱۵۰ میکروگرم/میلی‌لیتر در رقم ترمه (۴/۸۳ واحد پروتئینی) نسبت به غیر آلوده

ویراستاری نشده

(۲/۱–۲/۳ میلی گرم) نشان داده شد. در بازه زمانی ۷۲ ساعت بعد از آلودگی میزان فنل کل در هر دو گروه بیمار و غیر بیمار افزایش قابل ملاحظه ای را نسبت به شاهد در تیمار با داروی رزوراترول نشان دادند. میزان افزایش در هر دو گروه در رقم ترمه از کاپتین بیشتر بود ولی در گروه بیمار برای هر دو رقم میزان افزایش بیشتر از گروه غیر بیمار ثبت و مشاهده گردید (شکل ۴). مقایسه میانگین داده‌های حاصل از اثر بازه‌های زمانی در تجمع میزان پروتئین برگ نشان داد که بیشترین مقدار تولید (۰/۸ میکروگرم پروتئین) در بازه زمانی ۴۸ ساعت بعد از مایه‌زنی عامل بیماری در حضور تیمار 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 ۴).



شکل ٤. تاثیر تیمار داروی رزوراترول بر مقدار فنل کل در دو رقم گوجه فرنگی ترمه و کاپتین با تحت تنش زیستی توسط قارچ *Fusarum oxysporum* f.Sp. *lycopercisi* در ۳ بازه زمانی . تیمارهایی که با حروف مختلف نشان داده شده اند در آزمون Duncanدر سطح پنج درصد دارای اختلاف معنی دار هستند.

تأثیر رزوراترول بر برخی صفات زراعی دو رقم گوجه فرنگی

نتایج مربوط به مقایسه میانگین‌ها در طرح کاملاً تصادفی، مقایسه اثر رزوراترول را بر روی صفات زراعی مورد مطالعه در دو رقم گوجه فرنگی با گیاهچه‌های شاهد مشاهده می‌گردد (جدول۱). نتایج آنالیز آماری نشان می‌دهد که این ماده دارویی در سطح آماری ۹۵٪ با شاهد در همه صفات باعث بهبود صفات زراعی گیاهچه‌های گوجه فرنگی گردید. نتایج نشان می‌دهد که رزوراترول بر ارتفاع

رونمایی نشده

ساقه نسبت به سایر صفات اثر محسوستری داشته است و این در حالی است که رقم ترمه بیشترین اثرپذیری را داشته است. کمترین میزان تغییرصفات نسبت به ریشه مربوط به صفت وزن خشک اندام های هوایی نسبت به شاهد مشاهده گردید.

جدول۱: مقایسه میانگین برخی صفات زراعی دو رقم گوجه فرنگی تحت اثر داروی رزوراترول با آزمون LSD

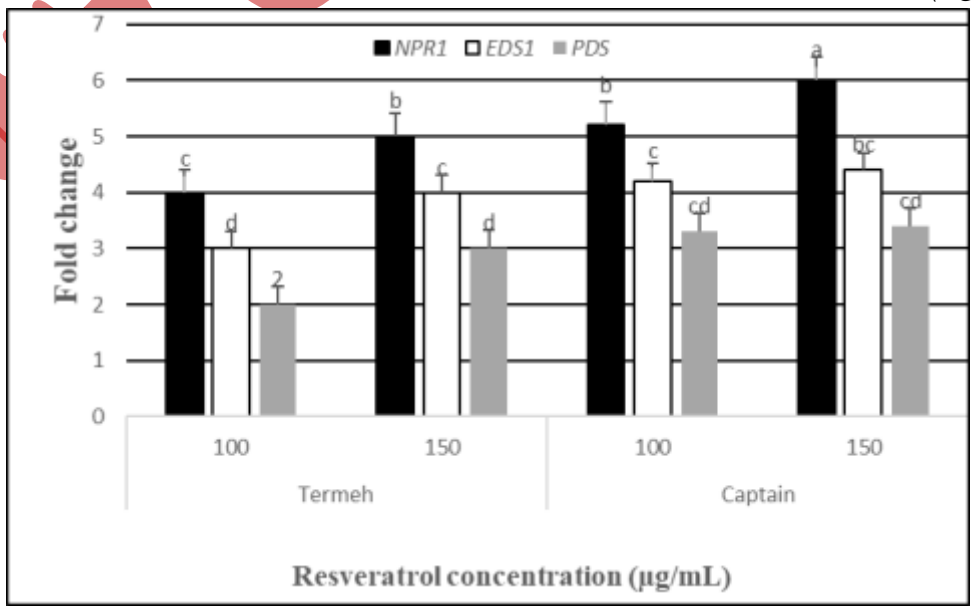
تیمار	وزن تر ریشه (g)	وزن خشک ریشه (g)	ارتفاع ساقه (cm)	ارتفاع ریشه (cm)	وزن تر اندام هوایی (g)	وزن خشک اندام هوایی (g)
کاپتین	۰/۰۹۰ b	۰/۰۱۸ b	۱۰/۱۷۵ bc	۴/۹۵۰ ab	۱/۵۱۲ d	۰/۱۳۸ fg
ترمه	۰/۰۹۶ a	۰/۰۲۰ a	۱۱/۰۵۰ a	۵/۱۶۲ a	۲/۴۰۰ a	۰/۲۰۷ a
شاهد	۰/۰۸۴ c	۰/۰۱۶ c	۸/۶۷۵ e	۳/۹۸۸ d	۱/۴۷۵ d	۰/۱۳۴ g

در هر ستون حروف مشابه اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۵ ندارند.

بررسی بیان ژن های مورد استفاده

با توجه به داده‌های بدست آمده در بخش آنزیمی و بررسی صفات ظاهری گیاهان تیمار شده در حالت بیماری مشخص گردید که تا حددی واکنش مقاومتی گیاه در بازه زمانی ۷۲ ساعت بعد از آلودگی بیشتر از بازه ۴۸ ساعت می باشد بنابراین بررسی تعدادی از ژن های دخیل در مقاومت در این بازه زمانی مورد ارزیابی قرار گرفت.

میزان بیان ژن های *Npr1* و *Pds* در ه ر دو رقم آلوده تیمار شده با رزوراترول اگر چه تقریباً یکسان بود ولی نسبت به شاهد میزان افزایش بیشتری را نشان دادند. بیان تمام ژن های مورد آزمون در رقم کاپتین بیشتر از رقم ترمه نشان داده شده که این نتایج نشان از مقاوم بودن این رقم به بیماری می باشد. با توجه به این داده ها چنین نتیجه‌گیری می شود که کاربرد داروی رزوراترول باعث افزایش فعالیت ژن های مورد نظر شده است که نشان از القا مقاومت اکتسابی از طریق مکانیسم‌های مولکولی در هر دو رقم دارد که این القا در رقم کاپتاین نسبت به ترمه بیشتر و مشخص تر می باشد هر چند صفات رویشی در رقم ترمه تا حدود بسیار ناچیزی بیشتر تعیین گردد (شکل ۵).



غیرقابل ویرایش

شکل ۵. آنالیز بیان ژن های مورد بررسی در مطلعه کاربرد دراوی رزوراترول در القا مقاومت گوجه فرنگی به بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی ناشی از قارچ *Fusarium oxysporum* fsp. *lycopersici*.
تیمارهایی که با حروف مختلف نشان داده شده اند در آزمون Duncanدر سطح ۱درصد دارای اختلاف معنی دار هستند.

بحث

کنترل بیماری های خاکزاد گیاهی با استفاده از آفت کش های شیمیایی علاوه بر لزوم هزینه کرد بالا، می تواند منجر به آلودگی های زیست محیطی شود. روش های مختلفی بر مبنای حفاظت از محیط زیست در راستای مهار بهینه بیماری های گیاهی به ویژه بیماری های خاکزاد برای محصولات مختلف گیاهی بوسیله گروه های تحقیقاتی مختلف ارایه شده است (García-Fraile et al., 2015; Pathak et al., 2017; Mishra et al., 2017). بیماری پژمردگی فوزاریومی ناشی از قارچ *F.oxysporum* f.sp.*lycopersici* یکی از بیماری های قارچی مهم گلخانه ای در ایران بشمار می آید که خسارت قابل توجهی را به محصولات صیفی و سبزی از جمله گوجه فرنگی وارد می کند (Sabbagh et al., 2017). در این پژوهش از روش القای مقاومت به وسیله داروی رزوراترول جهت مبارزه با این بیماری استفاده گردید. تاثیر کاربرد خارجی رزوراترول بر روی تغییرات آنزیمی در گیاهان تیمار نشان داد که این دارو علاوه بر افزایش سطح آنزیم‌ها سبب افزایش رشد رویشی گیاه شده است که این افزایش رشد می‌تواند در نتیجه افزایش جذب مواد غذایی و تحرکات هورمونی باشد. بررسی صفات زراعی نشان داد که اغلب صفات مورد بررسی تحت تاثیر تیمار دارویی قرار گرفته ند هرچند صفات زیرزمینی مانند ریشه تاثیر به مراتب کمتری از ساقه را از عملکرد تولیدی خود نشان داد. استفاده از ترکیباتی مشابه نظیر استریگولاکتون ها البته مخلوط با قارچ میکوریز ریزوفاگوس نیز نتایج مشابهی را در افزایش اجزاء عملکرد داشته است (Mirrahimi *et al.*, 2021). نتایج فنوتیپی بدست امده نشان از افزایش محسوس پارامترهای رشدی گیاهان تیمار شده در دو رقم نسب به شاهد می‌باشد اگر چه این افزایش نسبت به شاهد در صفاتی از نظر آماری معنی‌دار می باشد ولی در صفاتی مانند وزن تر اندام های هوایی این افزایش زیاد محسوس نمی باشد که به علت حضور قارچ در اندام های هوایی این نتایج قابل پیش بینی می باشد ولی در ریشه گیاه افزایش محسوستر به نظر می‌رسید.

پراکسیدازها نقش مهمی در تشکیل ارتباط سخت میان سلولز، پکتین و لیگنین در دیواره سلولی گیاه و در نهایت مقاومت بیشتر دیواره سلولی دربرابر نفوذ بیمارگر را ایفا می کنند (Fagerstedt et al., 2010; Voxeur & Höfte, 2016). شروع مقاومت القایی همزمان با بیان هماهنگ آنزیم های مربوط به دفاع مانند پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و PAL است (Tomás-Barberán & Espin, 2001). در بین آنزیم های بررسی شده بیشترین میزان افزایش آنزیم مربوط به انزیم کاتالاز و در .غلظت.۱۰۰ میکرومولار از رزوراترول و در بازه زمانی ۴۸ ساعت بعد از بیماری و در رقم ترمه مشاهده گردید. با توجه به نقش سریع آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند آنزیم های کاتالاز و پراکسیداز در تخریب رادیکال های آزاد، چنین نتیجه ایی دور از تصور نیست. مطالعات مشابه با ترکیبات اسپرمیدین ها نیز شاهد افزایش میزان آنزیمی بوده ایم ولی میزان هر یک از انزیم ها با توجه به رقم و بازه زمانی متفاوت ثبت گردید (Sabbagh *et al.*, 2020). که با توجه به شرایط ازمایش و نوع ماده تحریک کننده دور از انتظار نمی باشد ولی در ارتباط با ترکیبات ذکر شده (اسپرمیدین ها)، رزوراترول به نظر اثر افزایشی کمتری در القاء مقاومت داشته است که می توان این امر را به تاثیر کم این ماده در افزایش ترکیبات فنلی گیاه نسبت داد. افزایش تعدادی از آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی درکاربرد خارجی اسید جاسمونیک در گیاه گندم آلوده به بیماری اسکب گندم نشان داده شده است. در گیاه خیار آلوده به بیماری بوته میری نیز کاربرد القا کنندگان مقاومت اثر مشابه را داشته است (Sabbagh et al., 2018). بررسی تغییرات میزان فنل‌کل در گیاهان تیمار شده نشان داد که در بازه زمانی ۴۸ ساعت بعد از الودگی میزان تغییر برای هر دو حالی بیمار و غیر بیمار تقریبا مقداری برابر بوده است ولی با گذشت زمان و رسیدن به بازه زمانی ۷۲ ساعت بعد از بیماری

میزان تغییر فنل کل برای غلظت ۱۵۰ میکرومولار از دارو در گیاهان بیمار بیشتر بوده است که این نتایج با توجه به افزایش مقاومت اکتسابی گیاه بعد از تنش و القاء قابل تصور می باشد و نشان از تاثیر گذاری دارو داشته است. تفاوت در مقدار بیان و تولید آنزیم می‌تواند ناشی از نقش آن آنزیم در واکنش های دفاعی به ویژه در ابتدای دوره بیماری زایی و برخورد گیاه با بیماری باشد. احتمالاً تاثیر بالای غلظت رزوراترول (۱۵۰میکرومولار) در افزایش تعدادی از پارامترهای اندازه گیری شده، حکایت از نیاز به غلظت بیشتر این دارو برای فعال کردن واکنش های دفاعی به صورت غیرمستقیم و از طریق فعال نمودن آنزیم‌های دفاعی باشد (Sabbagh *et al*., 2018). ژن *Eds1* یکی از ژن های مهم در فعالیت های مقاومتی گیاهان می‌باشد که در تولید هورمون های گیاهی نظیر اسید سالیسیلیک دخالت دارد و قادر به افزایش مقاومت اکتسابی گیاه در برابر بیماری می‌شود. با استفاده از تکنیک ژن خاموشی نشان داده شده است که خاموش کردن این ژن در گوجه فرنگی آلوده به بیماری شانکر باکتریایی، منجر به افزایش شدت بیماری به ویژه در روزهای ابتدایی جوانه زدن بذر و رشد گیاهچه شده است که نشان از نقش کلیدی این ژن در القاء مقاومت می‌باشد (Bolok Yazdi et al., 2018). در این تحقیق نیز نشان داده شد که میزان بیان ژن با کاربرد خارجی رزوراترول نسبت به شاهد بیشتر بوده که با نتایج مشابه مطابقت دارد هر چند در این دو رقم با رقم های قبلی اختلاف بیان دارد که این اختلاف بیان می تواند به دلیل نوع عامل بیمارگر باشد و داده‌های متغییری را نشان دهد. در این تحقیق نیز میزان بیان این ژن با کاربرد رزوراترول با شاهد اختلاف معنی داری را نشان داد. کاربرد متیل جاسمونات نیز در گوجه فرنگی الوده به بیماری پژمردگی فوزاریومی باعث افزایش بیان ژن های *Eds1* و *Pds1* شده است که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد تغییر مقدار ترکیبات فنلی و نقش آن‌ها در ایجاد مقاومت در گیاهان مبتلا به بیماری‌های مورد مطالعه پژوهشگران قرار گرفته و گزارش‌های این پژوهشگران نشان می‌دهد که تجمع مواد فنلی اغلب در ارتباط با یک آنتی اکسیدان اولیه است که به طور مستقیم با رادیکال هیدروکسیل، سوپراکسید و اکسیژن یکتایی واکنش می‌دهد (Noctor & Foyer, 1998). با توجه به ارزان بودن و در دسترس بودن این دارو، در صورت مطالعات تکمیلی و مزرعه‌ای امکان استفاده از ان در کشت های محدود و اقتصادی مقرون به صرفه می‌باشد. ولی در حال حاضر با این نتایج می‌توان توصیه نمود که این ترکیب در تولید نشاء گیاهانی مانند چوجه‌فرنگی، خیار و فلفل می‌تواند نقش کاربردی داشته باشد

نتیجه گیری کلی و پیشنهادها

اطلاعات در ارتباط با نقش داروی رزوراترول در افزایش مقاومت به بیماری های گیاهی بسیار اندک می باشد و با توجه به بررسی منابع بعمل آمده، تاکنون تحقیقی بر این مضمون به ویژه در ایران صورت نگرفته است. با توجه به منابع موجود رزوراترول در جلوگیری از پیشرفت قارچ و تاثیر مستقیم ممکنست تاثیر گذار نباشد ولی مقدار آن با حضور عامل خارجی در گیاه افزایش یافته و نظر به ماهیت فنلی و انتی اکسیدانی خود ممکن نقش القا کنندگی مقاومت در گیاه را ایفا کند. ولی اگر بصورت local عمل کند باید باعث ایجاد واکنش فوق حساسیت شود که این اتفاق حداقل در ازمایش ما مشاهد نشد در صورتی که گیاهان تا مرحله میوه دهی هم نگه داشته با توجه به نتایج تحقیقات انجام شده چنین بر می اید که تنش های زیستی در گیاهان می توانند مسیرهای مولکولی مقاومتی را در آنها تحت تاثیر و فعال نمایند. چنین مسیرهایی می تواند منجر به ایجاد سدهای دفاعی با تولید پلی ساکاریدهایی مانند لیگنین و سوبرین نموده و واکنش های مقاومتی فوق حساسیت را در مناطق آلوده گیاهای از طریق محصور کردن و بدام انداختن عامل بیمارگر تداعی بخشد .در این مطالعه واکنش فوق حساسیت از طریق کاربرد داروی رزوراترول مشاهده نگردید. ولی با توجه به مشاهدات موجود پیشنهاد می‌شود اثر مقایسه ای این ترکیب با ترکیبات هورمونی مشابه مانند استرگولاکتون ها و استیلبن‌ها در شرایط مشابه و با همین بیماری مقایسه شود و همچنین اثر این ماده دارویی در القاء مقاومت به بیماری و یا حتی در راستای افزایش پارامترهای رشدی به ویژه در تولید نهال‌های سبزی و صیفی مورد استفاده قرار گیرد.

قدردانی

این تحقیق در گلخانه آزمایشی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه یزد انجام گردید که در اینجا از تمام مسئولان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه یزد به ویژه ریاست محترم مزرعه آموزشی و گلخانه های دانشگاه و همچنین از مدیریت گروه بیابان تقدیر و تشکر بعمل می اید.

منابع

صباغ، سید کاظم؛ گلستانی، منصور؛ سرافراز اردکانی، محند رضا؛ عباسی، اسماعیل و طاهری، مرضیه (۱۳۹۸). فیتوهورمون اسپرمیدین و القاء مقاومت به دو رقم گوجه فرنگی ترمه و کاپتین به بیماری پژمردگی فوزاریومی ایجاد شده به وسیله قارچ *Fusarium oxysporum* fsp. *Lycopersici*. مجله حفاظت از گیاهان، ۵۱، ۲۷۹-۳۱۳.

میررحیمی، سید محمد رضا؛ صباغ، سید کاظم؛ سیفتی، سید ابراهیم؛ کیخاه صابر، مجتبی و طاهری، عبدالحسین (۱۴۰۲). 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. پژوهش های کاربردی در گیاهپزشکی، ۲ (۱)،۴۳-۵۶.

Backer, R., Naidoo, S., & Van den Berg, N. (2019). The NONEXPRESSOR OF PATHOGENESIS-RELATED GENES 1 (NPR1) and related family: mechanistic insights in plant disease resistance. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 430215.

Basra, A. (2000). *Plant growth regulators in agriculture and horticulture: their role and commercial uses*. CRC Press.

Bolok Yazdi, H. R., Sabbagh, S. K., Mazaheri, M., Salari, M., & Moshtaghioun, S. M. (2018). Virus-induced gene silencing for functional analysis of eds1 gene in tomato infected with Ralstonia solanacearum.

Celep, E., Seven, M., Akyüz, S., İnan, Y., & Yesilada, E. (2019). Influence of extraction method on enzyme inhibition, phenolic profile and antioxidant capacity of Sideritis trojana Bornm. *South African Journal of Botany*, *121*, 360-365.

Fagerstedt, K. V., Kukkola, E. M., Koistinen, V. V., Takahashi, J., & Marjamaa, K. (2010). Cell wall lignin is polymerised by class III secretable plant peroxidases in Norway spruce. *Journal of Integrative Plant Biology*, *52*(2), 186-194.

García-Fraile, P., Menéndez, E., Celador-Lera, L., Díez-Méndez, A., Jiménez-Gómez, A., Marcos-García, M., Cruz-González, X. A., Martínez-Hidalgo, P., Mateos, P. F., & Rivas, R. (2017). Bacterial probiotics: a truly green revolution. In *Probiotics and plant health* (pp. 131-162). Springer.

Gomes, M. P., Kitamura, R. S. A., Marques, R. Z., Barbato, M. L., & Zámocký, M. (2022). The role of H2O2-scavenging enzymes (ascorbate peroxidase and catalase) in the tolerance of Lemna minor to antibiotics: implications for phytoremediation. *Antioxidants*, *11*(1), 151.

Hernández-Aparicio, F., Lisón, P., Rodrigo, I., Bellés, J. M., & López-Gresa, M. P. (2021). Signaling in the tomato immunity against Fusarium oxysporum. *Molecules*, *26*(7), 1818.

Hu, G., DeHart, A. K., Li, Y., Ustach, C., Handley, V., Navarre, R., Hwang, C. F., Aegerter, B. J., Williamson, V. M., & Baker, B. (2005). EDS1 in tomato is required for resistance mediated by TIR-class R genes and the receptor-like R gene Ve. *The Plant Journal*, *42*(3), 376-391.

Kang, J. E., Yoo, N., Jeon, B. J., Kim, B. S., & Chung, E.-H. (2022). Resveratrol Oligomers, Plant-Produced Natural Products With Anti-virulence and Plant Immune-Priming Roles. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 885625.

Lahlali, R., Ezrari, S., Radouane, N., Kenfaoui, J., Esmaeel, Q., El Hamss, H., Belabess, Z., & Barka, E. A. (2022). Biological control of plant pathogens: A global perspective. *Microorganisms*, *10*(3), 596.

Mirrahimi, S. R., Pirnia, M., Sabbagh, S. K., Seifati, S. E., Keikha, S. M., & 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.

Mirzamasoumzadeh, B., Ghalichechi, S., Salami, M., Karimi, M., & Baghal Mohseni, A. (2013). The study of wheat genotypes is planted in Ardabil using multivariate statistical methods. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, *2*(8), 188-189.

Mishra, S., Singh, A., Keswani, C., Saxena, A., Sarma, B., & Singh, H. (2015). Harnessing plant-microbe interactions for enhanced protection against phytopathogens. In *Plant Microbes Symbiosis: Applied Facets* (pp. 111-125). Springer.

Noctor, G., & Foyer, C. H. (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual review of plant biology*, *49*(1), 249-279.

Orzaez, D., Mirabel, S., Wieland, W. H., & Granell, A. (2006). Agroinjection of tomato fruits. A tool for rapid functional analysis of transgenes directly in fruit. *Plant physiology*, *140*(1), 3-11.

Pathak, D., Kumar, M., & Rani, K. (2017). Biofertilizer application in horticultural crops. In *Microorganisms for Green Revolution* (pp. 215-227). Springer.

Paudel, K., Kumar, S., Meur, S., & Kumaresan, A. (2010). Ascorbic Acid, Catalase and Chlorpromazine Reduce Cryopreservation-induced Damages to Crossbred Bull Spermatozoa a. *Reproduction in domestic animals*, *45*(2), 256-262.

Pfaffl, M. W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT–PCR. *Nucleic acids research*, *29*(9), e45-e45.

Sabbagh, E., Sabbagh, S. K., Panjehkeh, N., & Bolok-Yazdi, H. R. (2018). Jasmonic acid induced systemic resistance in infected cucumber by pythium aphanidermatum. *Tarim Bilimleri Dergisi J Agric Sci*, *24*, 143-152.

Sabbagh, S. K., Golestani, M., Sarafaraz, M. R., 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 Science*, *51*(2), 297-313.

Sabbagh, S. K., Poorabdollah, A., Sirousmehr, A., & Gholamalizadeh Ahangar, A. (2017). Bio-fertilizers and Systemic Acquired Resistance in Fusarium Infected Wheat. *Jounal of Agricultural Science and Technology (JAST)*, *19*, 453-464.

Sabrol, H., & Satish, K. (2016). Tomato plant disease classification in digital images using classification tree. 2016 international conference on communication and signal processing (ICCSP),

Sarma, B. K., Yadav, S. K., Singh, S., & Singh, H. B. (2015). Microbial consortium-mediated plant defense against phytopathogens: readdressing for enhancing efficacy. *Soil Biology and Biochemistry*, *87*, 25-33.

Tomás-Barberán, F. A., & Espin, J. C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *81*(9), 853-876.

Voxeur, A., & Höfte, H. (2016). Cell wall integrity signaling in plants:"To grow or not to grow that's the question". *Glycobiology*, *26*(9), 950-960.

Wiermer, M. (2005). *Molecular and spatial characterisation of Arabidopsis EDS1 defence regulatory complexes* Universität zu Köln].

Zavaliev, R., & Dong, X. (2023). NPR1, a key immune regulator for plant survival under biotic and abiotic stresses. *Molecular Cell*.

Zhou, X., Wang, J.-T., Wang, W.-H., Tsui, C. K., & Cai, L. (2021). Changes in bacterial and fungal microbiomes associated with tomatoes of healthy and infected by Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici. *Microbial ecology*, *81*(4), 1004-1017.

Extended abstract

Introduction

Tomato (*Solanum lycopersicum*) is an annual plant belonging to Solanaceae family, currently cultivated as the second most common vegetable. Fusarium wilting disease, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, is on of the most important disease of tomato, causing economic damage in a large number of producing field especially in greenhouse conditions. Symptoms of tomato wilt disease initialte with small patches of wilting, gradually spreading across the field, and then the upper leaves of affected plants begin to wilt. Chemical pesticides are the first strategy for disease control, but despite their benetites and effectivnees in crop production and disease management, the use of pesticides poses significant hazards to the environment and public health. Therefore, biological control of plant disease could be considered an alternative to chrmical pesticides. Biological control of planrt disease using phytohormenes and secondry metabolits is the goal of sustainable agriculture. In this research the effects of Resveratrol on reducing resistance in tow tomato cultivar against fusarium wilting disease in greenhouse conditions were investigated.

Matherial Methods

Two tomato cultivars, Captain and 4129, were used in this research. The tomato seeds were surface sterilized with 1% sodium hypochlorite solution for three minutes. The Seedlings were carefulyl planted into 18 cm pots. *Fusrium oxysporum* f. sp. *lycopersici* isolate was used for pathogenicity test in a randomized block design with four repetition. The plantles were sprayed with 100 and 150 µM concentrations of Resveratrol twice at 4-6 leaf stage. Some yield components and also the activity of some defense enzymes, such as catalase, Prixidase, polyphenoloxidase and total phenol were assayed. The expression levels of some genes involved in plant resistance were analised using qRT-PCR methods. Acaquired data were analysied by SAS software and gene expression analysis was conducted using the comparative ΔΔct method.

Results and Discussio

The comparison of the effect of resveratrol on the growth parameters in two tomato cultivars showed that resveratrol sinificantly increased of tested parameters a statistical level of 95% in compared to control plants. The results showed that resveratrol had a more noticeable effect on stem height than on other parameters, with the termeh cultivar being more effective. The lowest amount of changes in the root characteristics was observed in the dry weight of the aerial parts compared to control plants. Among the measured enzymes, the highest increase was observed in catalase enzyme at 100µM concentration of resveratrol 48 h after plant infection. Considering the rapid role of antioxidant enzymes such as catalase and peroxidase in the scavenging free radicals, such results are expected. Similar studies with spermidine compounds have shown an increase in enzymes activity rates, but the amount of each enzyme avtivity varied according to the variety and time period. Under test conditions and considering the type of stimulating agent, these results are expected. However, compares to spermidine compondes, resveratrol seems to have a lower effect on inducing resistance, likely due to its lesser effect on increasing plant phenolic compounds. An increase in antioxidant enzyme levels has been observed with the external application of jasmonic acid in wheat plants infected with wheat scab disease. The use of resistance inducers has a similar effect in the cucumber plants the species responsible for dampinf-off disease.

Although the expression levels of *Npr1* and *Pds* genes in both infected varieties treated with resveratrol were elevated compared to control plant, Npr1 gene experssion was higher than other genes. The expression of all the tested genes in Captin cultivar compared to the Termeh cultivar, indicatingthat the Captain cultivar was more affected by resveratol in terms of resistance to the disease.

Conclusion

Biocontrol strategies, such as biotic and abiotic agents, can be effective against different pathogen by preparing cultural conditions. Several factors influence their effectiveness, including the introductuion of biological agents on a commercial scale, such as cost, efficacy, and reliability. Cultural practices such as good sanitation, soil condition, nutrtition, and host resistance significantly contribute to controlling many plant diseases. Therfore, for effective biocontrol of plant disease, agronomic practices must be sufficient. The results

of this research show that resveratrol can be used as a resistance inducer to disease stress. However, compared to other resistance inducers such as salicylic acid and jasmonic acid, Resveratrol is less efficient in plant pathology.
Keywords: Plant disease, Induced resistance, Antioxidants enzymes, Fungi

ویراستاری نشده