مقاله کوتاه

اثر قارچ *Trichoderma harzianum* BI بر فعالیت آنزیم‌های کیتیناز و گلوکاناز در ریشه گوجه‌فرنگی آلوده به نماتود ریشه‌گرهی (*Meloidogyne javanica*) و قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*)*

نسرین کمالی[۱]، نوازاله صاحبانی[۲]** و ابراهیم پورجم[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۲/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۲۶)

چکیده

در این تحقیق، اثر *Trichoderma harzianum* BI در تحریک مقاومت القایی سیستمیک گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی رقم ارلی‌اوربانا، بر اساس میزان فعالیت آنزیم‌های کیتیناز و گلوکاناز در ریشه گیاه اندازه‌گیری شد. ریشه‌های گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی به وسیله قارچ و لارو سن دوم نماتود ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* و قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* به روش خیساندن خاک مایه‌زنی گردید. میزان فعالیت آنزیم‌های کیتیناز و گلوکاناز در ریشه گیاه از روز اول بعد از مایه‌زنی به مدت هفت روز با استفاده از روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. نتایج تغییرات در میزان فعالیت آنزیم‌های کیتیناز و گلوکاناز در هر تیمار به تنهایی و تیمار هم‌زمان نماتود-فوزاریوم در مقایسه با کاربرد قارچ آنتاگونیست قبل از آن تیمار نشان داد که قارچ تریکودرما سبب افزایش میزان فعالیت آنزیم کیتیناز شده اما فعالیت آنزیم گلوکاناز در گیاهچه‌هایی که هر بیمارگر را به تنهایی و همچنین هر دو بیمارگر را هم‌زمان دریافت کردند، اختلاف معنی‌داری نداشت.

کلیدواژه: القاء مقاومت، کنترل بیولوژیک، قارچ آنتاگونیست، تعامل هم‌افزایی

---

* بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول، ارائه شده به دانشگاه تربیت مدرس

** مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Sahebani@ut.ac.ir

۱. به ترتیب، دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استاد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس.

۲. دانشیار بیماری‌شناسی گیاهی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران.

Effect of *Trichoderma harzianum* BI on chitinase and glucanase activity in tomato roots infected with *Meloidogyne javanica* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*[*]

N. Kamali[1], N. Sahebani[2], and E. Pourjam[1]**

(Received: 1.5.2014; Accepted: 16.3.2016)

Abstract

Effect of the fungus *Trichoderma harzianum* BI on stimulation of induced systemic resistance in tomato seedling, cv. Early Urbana, based on activity of chitinase and glucanase enzymes in root was measured. Roots of seedling were inoculated by *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* fungi and second stage juveniles of the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica*, by method of soil drenching. Changes of chitinase and glucanase enzymes in roots were daily measured by spectrophotometer from the first day of inoculation up to seven days. The results of this enzymes level in plants inoculated with nematode alone, plants inoculated with *Fusarium* alone and in simultaneous inoculation of nematode and *Fusarium*, as compared to the application *T. harzianum* BI before inoculation with nematode and *Fusarium*, indicate that *T. harzianum* BI significantly increased chitinase enzyme activity. While glucanase enzyme activity did not increase as a result of antagonist fungus.

Keywords: Induced resistance, biological control, antagonist fungus, synergist interaction

---

* A part of M.Sc. thesis of the first author, submitted to College of Agric., Tarbiat Modarres Univ., Tehran, Iran.

** Corresponding author's E-mail: Sahebani@ut.ac.ir

1. Former M.Sc. student and Prof. of Plant Pathol., respectively; College of Agric., Tarbiat Modarres Univ., Tehran, Iran.
2. Associate Prof. of Plant Pathol., Department of Plant Protection, Abouryhan Compelex, Tehran Univ. Varamin, Iran.

مقدمه

قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) W.C. Snyder and H.N. Hans یک بیمارگر گیاهی خاک‌زاد از رده هیفومیست است که سبب پژمردگی فوزاریومی به ویژه در گوجه‌فرنگی می‌شود. این بیماری از مهم‌ترین بیماری‌های گوجه‌فرنگی در مزارع و گلخانه‌ها بوده (Amini & Sidovich 2010) و اهمیت جهانی دارد. وقوع این بیماری در بیش از ۳۲ کشور جهان گزارش شده است (Jones *et al.* 1991). در ایران این بیماری اولین بار از استان هرمزگان (Fasihian *et al.* 1985) و سپس از استان تهران (Etebarian 1989) گزارش شده است.

نماتودهای ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.) انگل اجباری ریشه و از بیمارگرهای مهم و شایع محصولات کشاورزی و گلخانه‌ای بوده که دارای انتشار جهانی می‌باشند (Williamson & Gleason 2003, Abad *et al.* 2003, Nasr Esfahani 2012). تاکنون حدود ۲۰۰۰ گونه گیاهی میزبان برای اعضای این جنس گزارش شده است (Jepson 1987).

برهمکنش بین گونه‌های مختلف نماتود ریشه‌گرهی و بسیاری از عوامل بیماری‌زای گیاهی از جمله قارچ‌ها مورد توجه بسیاری از محققین بوده است (Haseeb *et al.* 2005, Dababat *et al.* 2008). تعامل بین *Meloidogyne* و *Fusarium* به طور گسترده در چندین گونه گیاهی از قبیل پنبه، توتون، گوجه‌فرنگی، آفتابگردان مطالعه شده است (Patel *et al.* 2000, Mokbel *et al.* 2007). در آلودگی توام نخودفرنگی با *M. javanica* و *F. oxysporum* f. sp. *ciceri* شدت پژمردگی فوزاریومی افزایش یافته است (Uma Maheswari *et al.* 1995). *کمالی* و همکاران (Kamali *et al.* 2015) نیز اثر قارچ *Trichoderma harzianum* BI در کنترل کمپلکس نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica* و قارچ عامل پژمردگی *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* قبل و بعد از مایه‌زنی بیمارگرها بررسی کردند. آنها مشاهده کردند با کاربرد تریکودرما قبل از مایه‌زنی هر بیمارگر به تنهایی و قبل از مایه‌زنی هم‌زمان نماتود و قارچ کلیه پارامترهای مرتبط با نماتود از قبیل تعداد گال، قطر گال و تعداد توده تخم و شاخص پژمردگی قارچ فوزاریوم را به طور چشم‌گیری کاهش یافت. منور و همکاران (Munawar *et al.* 2015) نیز بیوکنترل بیماری مختلط پژمردگی گوجه‌فرنگی که توسط نماتود ریشه‌گرهی (*M. incognita*) و قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی (*F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*) ایجاد می‌شود، در شرایط مزرعه مطالعه و گزارش کردند که در اثر کاربرد *T. harzianum* و *Purpureocillium lilacinum* پارامترهای تولیدمثلی نماتود از قبیل تعداد تخم و توده تخم و خسارت ناشی از قارچ به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت.

گیاهان قادر به تولید پاسخ ایمنی بعد از آلودگی اولیه به بیمارگر هستند که به عنوان مقاومت اکتسابی سیستمیک (SAR) شناخته شده است. فعال‌سازی SAR با بیان ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی از جمله β-۱و۳- گلوکاناز اسیدی و بازی و کیتیناز که علیه دیواره سلولی بیمارگرهای قارچی عمل می‌کنند مرتبط است (Ferreira *et al.* 2007). ریزوباکترهای غیر بیماری‌زا و قارچ‌ها منجمله *Trichoderma* spp.، نیز می‌توانند مقاومت سیستمیک را در گیاهان القاء کنند که از نظر ویژگی مشابه SAR است (Yedidia 2000). اثرات SAR به طور مؤثر در کل گیاه ۳ تا ۶ روز بعد از کاربرد القاءکننده‌های زنده و غیرزنده بیان شده و بسته به گونه گیاهی و شرایط محیطی، حدود ۱۴ تا ۲۰ روز دوام دارد (Bargabus *et al.* 2003). گونه‌های

تریکودرما به طور گسترده بـه عنـوان عوامـل آنتاگونیسـت قارچی و نیز افزایش‌دهنده‌های رشد گیاهی مـورد اسـتفاده قـرار گرفتـه‌انـد (Verma *et al.* 2007). میکوپارازیتیسـم، رقابت بر سر غذا و مکان، آنتی‌بیوز توسـط متابولیـت‌هـای ثانویـه و آنـزیم‌هـا و القـاء مکـانیزم‌هـای دفـاعی در گیـاه مهم‌ترین فعالیت‌های بیولوژیـک ایـن قـارچ‌هـا مـی‌باشـند (Verma *et al.* 2007).

هـدف از انجـام ایـن تحقیـق، بررسـی میـزان تغییـرات فعالیت آنزیم‌های کیتیناز و گلوکاناز در گیاه گوجـه‌فرنگـی آلوده به نماتود ریشـه‌گرهـی *M. javanica* و قـارچ عامـل پژمردگی *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* بـه تنهـایی و نیز آلودگی هم‌زمـان هـر دو بیمـارگر مـی‌باشـد. از دیگـر اهـداف ایـن طـرح، بررسـی تـاثیر قـارچ آنتاگونیسـت *T. harzianum* BI بر میزان بیماری و فعالیت این آنـزیم‌هـای دفاعی در گیاهان آلوده به بیمارگرهای ذکر شده می‌باشد.

مواد و روش‌های بررسی

الف) تهیه مایه تلقیح قارچ

قارچ آنتاگونیست *T. harzianum* BI و قارچ فوزاریـوم عامـل پژمردگـی گوجـه‌فرنگـی *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* از بخـش گیاهپزشـکی دانشـکده کشـاورزی دانشگاه تهران (پردیس ابوریحان) تهیه شد. این قارچ‌هـا در محیط کشت PDA به فراوانـی تولیـد اسـپور مـی‌کننـد. در انجام آزمـایش‌هـا از سوسپانسـیون حـاوی 10^6 اسـپور در میلی‌لیتر قارچ آنتاگونیست و قارچ بیماری‌زا استفاده شد.

ب) تهیه جمعیت نماتود

ریشـه آلـوده بـه نمـاتود ریشـه‌گرهـی از گلخانـه‌هـای گوجه‌فرنگی و خیار اطراف پاکدشت تهیه شد. پس از تهیه توده تخم منفرد روی گوجه‌فرنگی رقم ارلی‌اوربانـا و پـس از سه دوره متوالی انتقال روی گوجه‌فرنگی، میزان مناسـبی از جمعیت نماتود به دست آمد. شناسایی نماتود با اسـتفاده از مشخصات الگوی انتهـای بـدن مـاده (Jepson 1987) و استخراج تخم و لارو سن دوم نماتود بـا اسـتفاده از روش *هوسی و بارکر* (Hussey & Barker 1973) انجام گرفت.

ج) فعالیت آنزیم‌های کیتیناز و گلوکاناز در ریشه گیاهان گوجه‌فرنگی تیمار شده با بیمارگرهـای *M. javanica* و *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* و قارچ آنتاگونیست *T. harzianum*

بذور ضدعفونی شده گوجه‌فرنگی رقم ارلـی‌اوربانـا در گلدان‌های سترون یک کیلویی (حاوی خاک مزرعه، ماسـه، کودبرگ و پیت و پرلیت به نسـبت ۱:۱:۱:۲ در گلخانـه بـا دمای ۳±۲۵ درجـه سـانتیگراد کشـت شـد. گیاهچـه‌هـای گوجه‌فرنگی در مرحلـه دو برگـی نشـاء شـد و در مرحلـه شش برگی توسط ۲۰ میلـی‌لیتـر سوسپانسـیون قـارچ‌هـای مورد نظر با غلظت 10^6Spore/ml به روش خیساندن خاک و جمعیت ۲۰۰۰ لارو نماتود با فاصله چهار روز در قالـب تیمارهـای زیـر مایـه‌زنـی گردیـد (Sahebani & Hadavi 2008):

۱- تریکودرمـا + نمـاتود (T+N)؛ ۲- تریکودرمـا + فوزاریـوم (T+F)؛ ۳- تریکودرمـا + فوزاریـوم + نمـاتود (T+(F+N))؛ ۴- فوزاریـوم + نمـاتود (F+N)؛ ۵- گیـاه مایه‌زنی شده با تریکودرما (T)؛ ۶- گیاه مایه‌زنـی شـده بـا نماتود (N)؛ ۷- گیاه مایه‌زنـی شـده بـا فوزاریـوم (F)؛ ۸- گیاه سالم تیمار شده با آب مقطر سترون بـه عنـوان شـاهد (C)

این آزمایش در قالب طرح فاکتوریل ۸x۷ بر پایه کـاملاً تصادفی که فاکتور A شامل هشت تیمار ذکر شده و فاکتور B شـامل هفـت زمـان نمونـه‌بـرداری ۱ تـا ۷ روز بعـد از

مایه‌زنی با نماتود بود انجام شد و میزان تغییرات فعالیت آنزیم‌های کیتیناز و گلوکاناز مورد بررسی قرار گرفت.

بررسی فعالیت آنزیم β-۱و۳ گلوکاناز: بررسی فعالیت آنزیم β-۱و۳ گلوکاناز به روش *ابلس و فورنس* (Abeles & Forrence 1970) با تغییراتی صورت گرفت. جهت استخراج گلوکاناز به ۰/۷۵ گرم بافت ریشه مقدار ۱/۵ میلی‌لیتر بافر استات سدیم ۰/۰۵ مولار سرد اضافه شد و سپس در هاون سرد شده در ظرف یخ خرد و له گردید، عصاره هموژن شده به ویال‌های ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شد. عصاره حاصل برای مدت ۲۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ g در دمای ۴°C سانتریفوژ شد و بخش رویی به ویال‌های مشابه منتقل و جهت آزمایشات بعدی در دمای ۲۰°C- نگهداری شد. عصاره حاصله از فریز خارج و در یخچال قرار داده شد تا به آرامی ذوب شود. سپس ویال‌های مربوطه در حمام یخ قرار داده شد. مخلوط واکنش شامل ۳۰ میکرولیتر محلول پایه چهار درصد لامینارین (Sigma)، تهیه شده در بافر استات سدیم ۰/۰۵ مولار، با pH = ۵ و ۳۰ میکرولیتر عصاره گیاه بود. مخلوط حاصله برای ۳۰ دقیقه در حمام آب ۴۰°C نگهداری شد. سپس واکنش با اضافه کردن ۱۸۷ میکرولیتر معرف دی‌نیتروسالیسیلیک اسید متوقف شد (Miller 1959) و برای ۵ دقیقه در آب در حال جوشیدن قرار گرفت. سپس حجم نهایی به دو میلی‌لیتر رسانده شد.

فعالیت آنزیم به صورت میلی‌گرم گلوکز آزاد شده در دقیقه به ازای یک میلی‌لیتر عصاره گیاهی تعیین شد. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر Pharmacia LKB-Novaspec II جذب نوری آن در ۵۰۰ نانومتر اندازه‌گیری و برای رسم منحنی استاندارد از گلوکز استفاده شد.

ارزیابی میزان فعالیت آنزیم کیتیناز: برای استخراج کیتیناز گیاه از روش جین و همکاران (Jin *et al.* 2005) با کمی تغییرات استفاده شد. یک گرم بافت گیاهی با ۳ ml بافر استات ۰/۱ M (pH = ۵) هموژن شد و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰ g در دمای ۴°C سانتریفیوژ شد. بخش رویی حاوی آنزیم کیتیناز می‌باشد که تا قبل از انجام آزمایش در ۲۰°C- نگهداری شد. یک میلی‌لیتر عصاره گیاهی، ۰/۳ میلی‌لیتر بافر استات سدیم یک مولار (pH۴/۷) و ۰/۲ میلی‌لیتر کیتین کلوئیدال کاملاً مخلوط شده و به مدت ۱۲ ساعت در ۴°C نگهداری شد. سپس در g ۱۲۲۲۵ به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶°C سانتریفیوژ شد. بعد از سانتریفیوژ، ۰/۷۵ میلی‌لیتر از مایه رویی به اضافه ۰/۲۵ میلی‌لیتر از محلول دی‌نیترو سالیسیلیک اسید یک درصد در NaOH ۰/۷ مولار و ۰/۱ میلی‌لیتر NaOH ۱۰ مولار ترکیب و به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰°C قرار داده شد. فعالیت آنزیم به صورت تغییر جذب نور ناشی از تولید N-استیل-D-گلوکوزامین (1NAGA unit = 1μmol of NAGA) تولید شده در ساعت در هر میلی‌لیتر عصاره گیاهی بیان شد. سپس جذب نور در طول موج ۵۸۲ نانومتر اندازه‌گیری (Miller 1959) و برای رسم منحنی استاندارد تحت شرایط آزمایش از غلظت‌های مختلف NAGA (۲۰mM –۸۰۰μM) استفاده گردید.

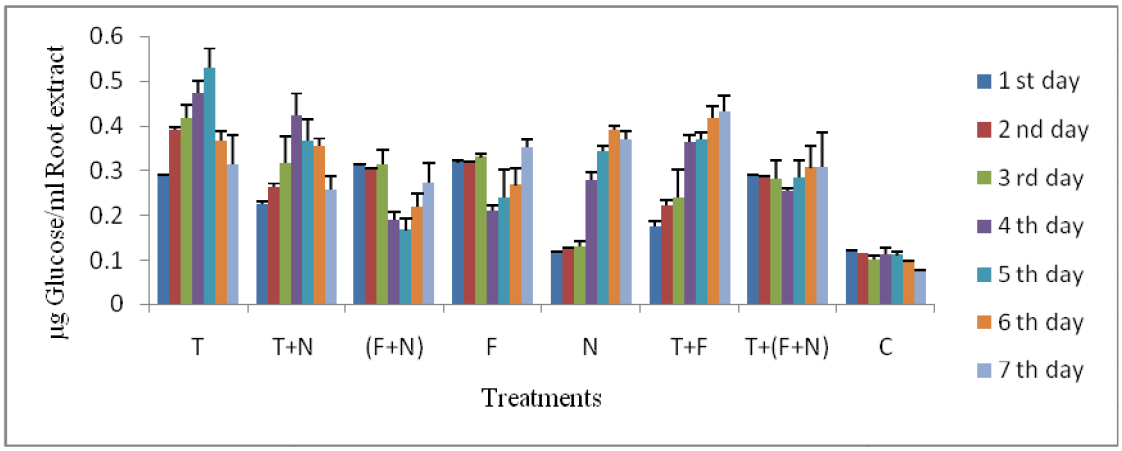
آنالیز آماری

برای محاسبات آماری و آنالیز میانگین کلیه آزمایش‌های انجام شده نیز از نرم‌افزاری SPSS و برای رسم نمودارها از برنامه نرم‌افزاری Excel (OFFICE 2007) استفاده شد.

نتایج

بررسی میزان تغییرات آنزیم گلوکاناز

نتایج آزمایش نشان داد که میزان فعالیت آنزیم در تیمار تریکودرما (T) در روز پنجم به حداکثر میزان خود رسیده



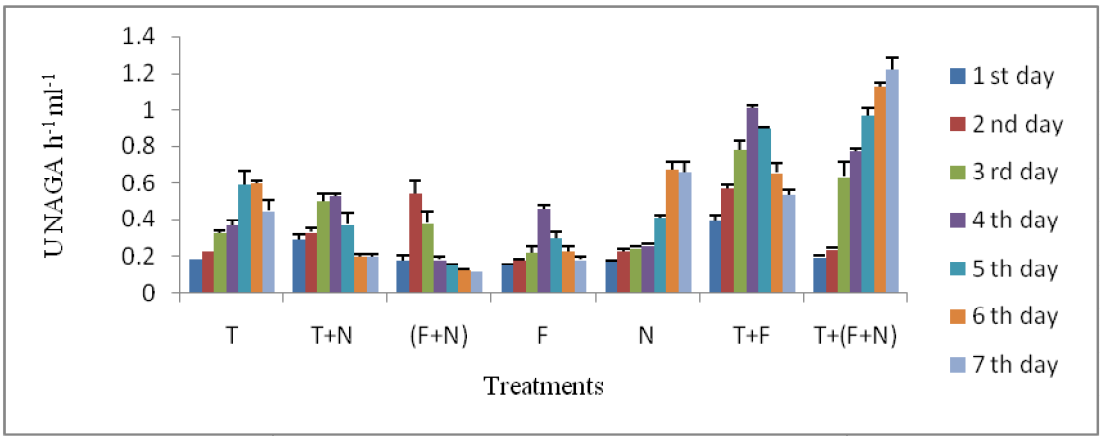
شکل ۱. تغییرات آنزیم β-۱و۳ گلوکاناز در ریشه گوجه‌فرنگی در روزهای اول تا هفتم بعد از مایه‌زنی با *T. harzianum* BI (T)، *M. javanica* (N)، *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (F) و کاربرد مختلف عوامل بیمارگر. اعداد مربوط به هر ستون میانگین چهار تکرار و بار روی ستون‌ها خطای استاندارد (± SE) می‌باشد.

Fig 1. Activity of glucanase enzyme in tomato roots (cv. Early Urbana Y) on days 1 to 7 after inoculation with *T. harzianum* BI (T), *M. javanica* (N), *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (F) and different combinations of the agents. Each value represents the mean of four replicates. The bars correspond to standard error.

و سپس کاهش یافت. در تیمار نماتود (N) فعالیت آنزیم از روز اول تا سوم روند افزایشی نداشت که در مقایسه با تیمار تریکودرما قبل از مایه‌زنی نماتود (T+N) تا روز چهارم فعالیت آنزیم روند افزایشی داشته و در مقایسه با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند. در تیمار فوزاریوم (F) فعالیت آنزیم از روز چهارم افزایش یافته است اما در مقایسه با تیمار تریکودرما قبل از مایه‌زنی فوزاریوم (T+F) از روز اول تا هفتم نمونه‌برداری روند افزایش در فعالیت آنزیم مشاهده شد و در مقایسه با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند. تیمار همزمان نماتود - فوزاریوم (F+N) نیز تفاوت چشمگیری با تیمار تریکودرما قبل از مایه‌کوبی همزمان نماتود - فوزاریوم (T+F+N) نداشتند (شکل ۱).

بررسی میزان تغییرات آنزیم کیتیناز

فعالیت آنزیم کیتیناز در تیمار تریکودرما (T) در روز ششم به بیشترین مقدار رسید. تیمار همزمان نماتود - فوزاریوم (F+N) در مقایسه با تیمار نماتود (N) بجز در روز اول اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند اما در مقایسه با تیمار فوزاریوم (F) فقط در روز دوم و چهارم با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند. در تیمار فوزاریوم (F) حداکثر فعالیت آنزیم در روز چهارم مشاهده شد که در مقایسه با تیمار تریکودرما قبل از مایه‌زنی فوزاریوم (T+F) در تمام روزهای نمونه‌برداری اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند. در تیمار نماتود تنها (N) هم روند افزایش وجود داشت که در مقایسه با تیمار تریکودرما قبل از مایه‌زنی نماتود (T+N) به جز در روز اول و دوم در بقیه روزهای نمونه‌برداری اختلاف معنی‌دار داشتند. تیمار همزمان نماتود - فوزاریوم (F+N) از روز دوم کاهش فعالیت آنزیم مشاهده شد و در مقایسه با تیمار تریکودرما قبل از مایه‌کوبی همزمان نماتود - فوزاریوم (T+F+N) روند افزایشی در فعالیت آنزیم مشاهده شد و به جز روز اول در بقیه روزها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲. تغییرات آنزیم کیتیناز در ریشه گوجه‌فرنگی در روزهای اول تا هفتم بعد از مایه‌زنی با *T. harzianum* BI (T)، *M. javanica* (N)، *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (F) و کاربرد مختلف عوامل بیمارگر. اعداد مربوط به هر ستون میانگین چهار تکرار و بار روی ستون‌ها خطای استاندارد (±SE) می‌باشد.

Fig 2. Activity of chitinase enzyme in tomato roots (cv. Early Urbana Y) on days 1 to 7 after inoculation with *T. harzianum* BI (T), *M. javanica* (N), *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (F) and different combinations of the agents. Each value represents the mean of four replicates. The bars correspond to standard error.

بحث

نتایج بررسی میزان فعالیت آنزیم β- ۱و۳-گلوکاناز نشان داد کاربرد تریکودرما قبل از مایه‌زنی بیمارگرها افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم در ریشه گیاهان تیمار شده نداشته و این آنزیم در القاء مقاومت گیاه علیه بیمارگرها نقش چشمگیری ایفا نکرده است. نتایج آزمایش ما با نتایج *الگاواد و کابیل* (Abd-Elgawad & Kabeil 2012) مطابقت دارد. آنها اثر قارچ *T. harzianum* بر فعالیت آنزیم β-۱و۳ گلوکاناز را در ریشه گوجه‌فرنگی ۲۰ روز بعد از مایه‌زنی نماتود *M. incognita* بررسی کردند و اختلاف چشم‌گیری بین گیاهان آلوده به نماتود و گیاهان مایه‌زنی شده با نماتود و قارچ مشاهده نکردند. علاوه بر این، تحریک القاء مقاومت در پنبه توسط *Bacillus subtilis* EPCO 102 منجر به کاهش بلایت باکتریایی به علت القاء کیتیناز، β-۱و۳-گلوکاناز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز در پنبه شده است (Rajendran *et al.* 2006). *کامبرینک* و همکارن (Kombrink *et al.* 1988) نیز افزایش فعالیت کیتیناز و گلوکاناز در برگ‌های سیب‌زمینی آلوده به *Phytophthora infestans* را تا ۱۱۰ ساعت بعد از مایه‌زنی گزارش کردند.

نتایج بررسی میزان فعالیت آنزیم کیتیناز نشان داد که مایه‌زنی همزمان نماتود-فوزاریوم به نحوی در کاهش فعالیت آنزیم نقش داشته و فعالیت این آنزیم را در برابر بیمارگرها محدود می‌کند که با نتایج صاحبانی و همکاران مشابه است. آنها به نقش نماتود در کاهش یا خاموش کردن سیستم دفاعی گیاه در تعامل نماتود ریشه‌گرهی و قارچ عامل پژمردگی آوندی گوجه‌فرنگی اشاره کردند (Sahebani & Hadavi 2008). در حالی‌که مایه‌زنی قارچ آنتاگونیست قبل از نماتود، قبل از فوزاریوم و حتی قبل از مایه‌زنی همزمان نماتود - فوزاریوم، نشان داد که قارچ تریکودرما قادر است به میزان قابل توجهی بر فعالیت آنزیم کیتیناز موثر باشد و با تحریک و القاء سیستم دفاعی گیاه سبب افزایش آنزیم‌های دفاعی شود. علی‌رغم این‌که نتایج *رامابارادی* و همکاران (Ramyabharathi *et al.* 2012)

نشان داد که در اثر عامل بیوکنترل *Bacillus subtilis* EPCO 16 روی القاء آنزیم‌های دفاعی کیتیناز و β-۱و۳-گلوکاناز در گوجه‌فرنگی آلوده به *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*، حداکثر فعالیت این آنزیم‌های دفاعی در روز هفتم بعد از مایه‌زنی با بیمارگر به حداکثر رسید.

با توجه به تحقیقات انجام گرفته توسط محققین و نیز نتایج بدست آمده از آزمایش حاضر می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از عوامل بیوکنترل به ویژه گونه‌های *Trichoderma* در کنترل بیولوژیک بیماری ناشی از نماتود ریشه‌گرهی و قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی مؤثر بوده و تیمار مجدد این گونه آنتاگونیست در طی فصل رشد به منظور القاء سیستم دفاعی گیاه می‌تواند نتایج مطلوبی جهت کنترل این بیماری فراهم کند و دوره حفاظت گیاه از بیمارگرها را افزایش دهد.

منابع

Abad P., Favery B., Rosso M. N. and Castagnone-Sereno P. 2003. Root-knot nematode parasitism and host responses: Molecular basis of a sophisticated interaction. Molecular Plant Pathology 4(4): 217-224.

Abd-Elgawad M. M. M. and Kabeil S. S. A. 2012. Biological control of *Meloidogyne incognita* by *Trichoderma harzianum* and *Serratia marcescens* and their related enzymatic changes in tomato roots. African Journal of Biotechnology 11(96): 16247-16252.

Abeles F. B. and Forrence L. E. 1970. Temporal and hormonal control of β-1,3-glucanase in *Phaseolus vulgaris* L. Plant Physiology 45: 395-400.

Amini J. and Sidovich D. F. 2010. The effects of fungicides on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* associated with Fusarium wilt of tomato. Journal of Plant Protection Research 50 (2): 172-178.

Bargabus R. L., Zidack N. K., Sherwood J. E. and Jacobsen B. J. 2003. Oxidative burst elicited by *Bacillus mycoides* isolate Bac J, a biological control agent, occurs independently of hypersensitive cell death in sugar beet. Molecular Plant-Microbe Interactions 16: 1145–1153.

Dababat A. A., Selim M. E., Saleh A. A. and Sikora R. A. 2008. Influence of Fusarium wilt resistant tomato cultivars on root colonization of the mutualistic endophyte *Fusarium oxysporum* strain 162 and its biological control efficacy toward the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Journal of Plant Diseases and Protection 115 (6): 273-278.

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.

Ferreira M. L., Ferreira P. H., Latimer J., Herbert R. D., Hodges P. W., Jennings M. D., Maher C. G. and Refshauge K. M. 2007. Comparison of general exercise, motor control exercise and spinal manipulative therapy for chronic low back pain: A randomized trial. PAIN 131: 31–37.

Haseeb A., Sharma A. and Shukla P. K. 2005. Studies on the management of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*-wilt fungus, *Fusarium oxysporum* disease complex of green gram, *Vigna radiata*cv ML-1108. Journal of Zhejiang University Science 6(8): 736-742.

Hussey R. S. and Barker K. R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. Including a new technique, Plant Disease Reporter 57: 1025-1028.

Jepson S. B. 1987. Identification of root-knot nematodes *Meloidogyne* species. CAB International Wallingford, UK. 265 p.

Jin R. D., Suh J. W., Park R. D., Kim Y. W., Krishnan H. B. and Kim K. Y. 2005. Effect of chitin compost and broth on biological control of *Meloidogyne incognita* on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Nematology 7(1): 125-132.

Jones J. B., Jones J. P., Stall R. E. and Zitter T. A. 1991. Compendium of tomato disease, APS Press, pp: 73.

Kamali N., Pourjam E. and Sahebani N. 2015. Elicitation of defense responses in tomato against *Meloidogyne javanica* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* wilt complex. Journal of Crop Protection 4(1): 29-38.

Miller G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry 31: 426-429.

Mokbel A. A., Ibrahim I. K. A., Shehata M. R. A. and El-Saedy M. A. M. 2007. Interaction between certain root-rot fungi and the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on sunflower plants. Journal of Phytopathology 35: 1-11.

Munawar M., Khan S. A., Javed N., Haq I. U. and Gondal A. S. 2015. Bio-management of tomato wilt complex caused by *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Nematology 17: 479-485.

Nasr Esfahani M., Ahmadi A. R. and Shirazi K. 2012. Susceptibility assessments of tomato genotypes to root-knot nematodes, *Meloidogyne javanica*. Journal of Ornamental and Horticultural Plants 2 (2): 113-121.

Patel B. A., Patel D. J. and Patel R. G. 2000. Effect of interaction between *Meloidogyne javanica* pathotype 1 and wilt inducing fungus, *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* on Chickpea. International Chickpea and Pigeonpea Newsletter 7: 17-18.

Rajendran L., Sarvanakumar D., Raguchander T. and Samiyappan R. 2006. Endophytic bacterial induction of defence enzymes against bacterial blight of cotton. Phytopathologia Mediterranea 45: 203-214.

Ramayabharathi S. A., Meena B. and Raguchander T. 2012. Induction of chitinase and β-1,3-glucanase PR proteins in tomato through liquid formulated *Bacillus subtilis* EPCO 16 against Fusarium wilt. Journal of Today's Biological Sciences 1: 50-60.

Sahebani N. and Hadavi N. 2008. Effect of root knot nematode (*Meloidogyne javanica*) on induction PAL in tomato root infected with Fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*). Journal of Agriculture Science 43: 218-225.

Uma Maheswari T., Sharma S. B., Reddy D. D. R. and Haware M. P. 1995. Co-infection of wilt-resistant chickpeas by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cicer* and *Meloidogyne javanica*. Supplement to the Journal of Nematology 27: 649-653.

Verma M., Brar S. K., Tyagi R. D., Surampalli R. Y. and Valero J. R. 2007. Antagonistic fungi, *Trichoderma* sp.: Panoply of biological control. Biochemical Engineering 37: 1-20.

Williamson V. M. and Gleason C. A. 2003. Plant–nematode interactions. Current Opinion in Plant Biology 6: 1-7.

Yedidia I., Benhamou N., Kaoulnik Y. and Chet I. 2000. Induction and accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. Plant Physiology Biochemistry 38: 863-873.