

The effect of Jasmonic acid and Methyl jasmonate on resistance induce of pistachio seedlings to Phytophthora crown and root rot

Mahmood Akhoondi ¹, Fatemeh Hassanzadeh Davarani ^{2*}, Amir Hossein Mohammadi ³

1- M.Sc. Graduate of Plant Pathology, Rafsanjan Branch, Islamic Azad University, Rafsanjan, Iran

2. * Department of Plant Pathology, Rafsanjan Branch, Islamic Azad University, Rafsanjan, Iran.

3. Pistachio Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rafsanjan, Iran

*Corresponding author: hasanzadeh.fatemeh1662@gmail.com

Receive: 2024/7/21

Accepted: 2024/8/1

Abstract

One of the most important diseases of pistachio trees is root and crown rot caused by various species of phytophthora, which annually eliminates the number of fertile and non-fertile trees. Host resistance considered as the most sustainable management methods of this pathogen. The purpose of this study was to investigate the effect of jasmonic acid (JA) on phytophthora root-rot of pistachio. In this research, the Badami-riz Zarand cultivar were used for planting. Then one- month seedlings with concentrations of 25, 50, 75 and 100 mg of jasmonic acid on kg soil were infected and Then Phytophthora drechsleri (Pd) was induced on the root of seedlings. In this study, the activity of Catalase, Peroxidase and Phenylalanine ammonia-lyase enzymes was measured. Results showed high JA concentration increased the activity of catalase enzyme (CAT) in comparison control whereas increasing is only at a concentration of 100 mg JA per kg of soil with a significant difference at 1% level. Also, at level a 1% increase in the concentration of jasmonic acid caused a significant increase in Guaiacol Peroxidase enzyme compared to control. Furthermore, increasing JA concentration the specific activity of Phenylalanine ammonia-lyase enzyme was significantly increased in comparison the control. Therefore, the stimulant of jasmonic acid increases the enzymes of resistance. It is possible to use them in the biological control of soil pathogens to avoid excessive consumption of fungicides, resistance to fungicides and environmental degradation.

Keywords: Enzyme, Pistachio, Gummosis, Resistance, Hormone

تأثیر متیل جاسمون و جاسمونیک اسید در الفا مقاومت نهال های پسته نسبت به پوسیدگی

فیتوفتورایی طوقه و ریشه

محمود آخوندی^۱، فاطمه حسن زاده داورانی^{۲*}، امیرحسین محمدی^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، واحد رفسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، رفسنجان، ایران.

۲- *گروه بیماری شناسی گیاهی، واحد رفسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، رفسنجان، ایران.

۳- پژوهشکده پسته، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رفسنجان، ایران.

*نویسنده مسئول: hasanzadeh.fatemeh1662@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۵/۱۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۴/۲۹

چکیده

یکی از مهم ترین بیماری های درختان پسته پوسیدگی طوقه و ریشه (گموز) ناشی از گونه های مختلف قارچ *Phytophthora* می باشد و هر ساله باعث از بین رفتن تعداد بسیاری از درختان بارور و غیر بارور می شود. مقاومت میزبان یکی از پایدارترین روش های کنترل این بیمارگر است. هدف این تحقیق بررسی تأثیر جاسمونیک اسید (JA) بر روی پوسیدگی فیتوفتورایی ریشه پسته می باشد. در این تحقیق از رقم پسته بادامی ریز زرد جهت کاشت استفاده شد. سپس گیاهچه های یک ماهه با غلظت های ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم جاسمونیک اسید در کیلوگرم خاک مایه زنی شده و پس از آن، قارچ *P. drechleri* (Pd) روی ریشه نهال ها مایه زنی شد. در این مطالعه، میزان فعالیت آنزیم های کاتالاز، پراکسیداز و فنیل آلانین آمونیالیز اندازه گیری شد و نتایج نشان داد که، با افزایش غلظت JA فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز (CAT) در مقایسه با شاهد افزایش یافت اما این افزایش تنها در غلظت ۱۰۰ میلی گرم JA در کیلوگرم خاک دارای اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد با شاهد بود. همچنین نتایج حاصل از داده ها نشان داد در سطح احتمال یک درصد افزایش غلظت اسید جاسمونیک باعث افزایش معنی دار آنزیم گلوکال پراکسیداز در مقایسه با شاهد شده است. علاوه بر این، با افزایش غلظت JA فعالیت ویژه آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز به طور معنی داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت. بنابراین محرک اسید جاسمونیک باعث افزایش آنزیم های مقاومت می شود و می توان استفاده از آن ها را در کنترل زیستی بیمارگرهای خاکزی پیشنهاد کرد تا از مصرف بی رویه سموم و موضوع مقاومت به قارچ کش ها و تخریب محیط زیست تا حد زیادی جلوگیری شود.

کلمات کلیدی: آنزیم، پسته، گموز، مقاومت، هورمون

مقدمه

پوسیدگی طوقه و ریشه ناشی از گونه های *Phytophthora* از مهمترین بیماری ها در پسته به شمار می آید و هر ساله باعث از بین رفتن شمار زیادی از درختان بارور و غیر بارور می شود (Mirabolfathy et al., 2001; Banihashemi, 1994; Mostowfzadeh Ghalamfarsa et al., 2008). وجود بیماری گموز اولین بار در سال ۱۳۴۱ از رفسنجان گزارش گردید و تاکنون گونه *P. citrophthora* (Smith & Smith) Leonian از درختان پسته آلوده در قزوین، رفسنجان، نی ریز و دامغان

جدا و معرفی گردیده است. در خصوص شناسایی و تعیین گونه‌های فیتوفتورا و سایر موارد مربوط به این بیماری، تحقیقات زیادی در داخل و خارج از کشور انجام شده است. تحقیقات انجام شده در مدیریت بیماری، مواردی مانند مبارزه زراعی، شیمیایی، مهار زیستی و استفاده از پایه‌های مقاوم را توصیه می‌کنند (Moradi, 2015). متداول‌ترین راه کنترل بیماری‌های خاگری استفاده از ترکیب‌های شیمیایی است، که به نوبه خود این ترکیب‌ها باعث ایجاد آسیب‌های غیرقابل جبران به محیط زیست، سلامت انسان و ایجاد مقاومت در بیمارگر می‌شوند. از این‌رو مهار زیستی به دلیل نداشتن تأثیر زیان‌بار زیست‌محیطی می‌تواند به عنوان یک نقطه عطف در روش‌های کنترل به شمار آید. بنابراین پدیده مقاومت القایی می‌تواند به عنوان یکی از مهم‌ترین سازوکارهای کنترل زیستی، کاربرد کنترل شیمیایی را کاهش دهد (Edreva, 2004). در حال حاضر ترکیب‌های مصنوعی (سنتزی) و زیستی متنوعی هستند که می‌توانند بسیاری از بیماری‌های گیاهی را بدون تأثیر مستقیم، و از راه القای مقاومت در گیاهان کنترل کنند. ترکیب‌های زیستی و ترکیب‌های مصنوعی، مقاومت را در بسیاری از گونه‌های گیاهی در برابر حمله انواع بیمارگرها شامل قارچ‌ها، باکتری‌ها و ویروس‌ها القا می‌کنند (Sticher et al., 1997). یکی از این ترکیبات جاسمونیک اسید و متیل استر آن (متیل جاسمونات) می‌باشند. بزرگترین وظایف اسید جاسمونیک در تنظیم کردن رشد گیاه است که شامل ممانعت از رشد، پیری و ریزش برگ گیاه می‌باشد. جاسمونات‌ها در گیاهان دارای اثرات تحریک کنندگی و بازدارندگی هستند. برخی از اثرات آن‌ها شبیه اتلین و آبسیزیک اسید است. افزودن جاسمونیک اسید خارجی به گیاه اثرات بازدارندگی در رشد گیاه، دانه و گلدهی دارد. همچنین روی رشد طولی ریشه، رشد قارچ همزیست (میکوریز)، رشد کالوس در کشت بافت گیاهی، جنین‌زایی، جوانه زایی بذر، تشکیل دانه گرده، تشکیل جوانه گل، فعالیت‌های فتوسنتزی به ویژه فعالیت آنزیم روبیسکو اثر بازدارندگی دارد. جاسمونیک اسید در سطح مولکولی نیز بیان ژن‌ها را در گیاهان تحت تأثیر قرار می‌دهد. این اسید همچنین در بوجود آمدن جوانه در سیب زمینی، سیب زمینی هندی و پیاز نقش دارد. این اسید نقش مهمی در پیچ خوردگی در گیاهان و همچنین مقاومت سیستماتیک آنان دارد. هنگامی که گیاهان توسط حشره‌ها مورد حمله قرار می‌گیرند، گیاه با آزاد کردن اسید جاسمونیک واکنش نشان می‌دهد، که این عمل از هضم کردن پروتئین توسط حشره ممانعت به عمل می‌آورد جاسمونیک اسید و مشتقات آن از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی هستند که مسئول مقابله با تنش‌های بیوتیک و غیر بیوتیک در گیاهان می‌باشند (Reyes-Díaz et al., 2016). همان‌طوری که در تکوین گیاه و بسیاری از مراحل نمو دخالت دارند نقش جاسمونات‌ها به عنوان قسمتی از یک مسیر انتقال پیام که به وسیله زخم‌های موضعی فعال می‌شوند به خوبی مشخص شده است. مقدار جاسمونات اندوژن بر اساس زخم افزایش می‌یابد و به وسیله فعال سازی ژن‌های درگیر در پاسخ‌های دفاعی گیاه ادامه می‌یابد. اسید جاسمونیک همچنین به مشتقات متنوعی تبدیل می‌شود، از قبیل استرها، مانند متیل جاسمونات و ممکن است با آمینو اسیدها نیز ترکیب شود. جاسمونات‌ها شامل Jasmonic acid (جاسمونیک اسید) و (Methyl- Jasmonate) متیل جاسمونات می‌شود. همچنین متیل جاسمونات از طریق تحریک گیاهان به بیان ژن‌های مرتبط به فعالیت‌های دفاعی باعث مقاومت به طیف وسیعی بیمارگرهای گیاهی می‌شود. در سال ۲۰۱۴ و پژوهشی اثرات تیمارهای اسید سالیسیلیک و اسید جاسمونیک به صورت کوتاه مدت برای حفظ کیفیت و افزایش عمر گلجایی گلبریده میخک بررسی شد و نتایج نشان داد که پژمردگی گلبرگ کاهش یافته و مواد جامد محلول گلبرگ، قطر گل و عمر گل افزایش می‌یابد (Hashemi and Mirdehghan, 2014). در گزارشی استفاده از متیل جاسمونات در محلول نگهدارنده گل بریده رز به جای قارچ‌کش‌های شیمیایی به علت خطر مقاومت قارچ‌ها در برابر آن‌ها و همچنین افزایش نگرانی عمومی و خطرات آن‌ها برای انسان و محیط زیست از رشد قارچ کپک خاکستری جلوگیری کرد و عمر گلجایی و کیفیت گل را بهبود بخشید (Meiret et al., 1998). در تحقیق دیگری اسید جاسمونیک یکی از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی محسوب می‌شود که در طیف وسیعی از واکنش‌های فیزیولوژیکی و نمو گیاهان اثر گذاشته و در پاسخ به تنش‌های زنده و غیرزنده از قبیل خشکی، شوری، خشکسالی و دما (کم/ زیاد) گیاه موثر است (Parvaiz Ahmad et al., 2016). همچنین بررسی اثر

متیل جاسمونات بر پژمردگی ناشی از *Fusarium oxysporum* در پنبه نشان داد که شدت این بیماری در برگ‌های تحت درمان با متیل جاسمونات به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش می‌یابد (Konan et al., 2014). با توجه به اهمیت مهار زسیتی بیمارگرها در این تحقیق تاثیر کاربرد جاسمونیک اسید و متیل جاسمونات بر بیماری پوسیدگی فیتوفتورایی ریشه نهال‌های پسته مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نهال‌های پسته

در این تحقیق از رقم پسته بادامی ریز زرد جهت کاشت استفاده شد. مغزهای پسته به مدت ۳۰ دقیقه در محلول وایتکس ۱۰ درصد ضدعفونی سطحی شده و سپس سه مرتبه (به مدت ده دقیقه) با آب مقطر سترون شسته شد. پس از خسیاندن بذرها به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر سترون و ضدعفونی با قارچ‌کش‌های بنومیل و PCNB (به میزان ۲ در هزار از هر کدام قارچ‌کش‌ها)، بذرها لابه لای پارچه ململ و در ظروف پلاستیکی دردار سترون و در دمای اتاق نگهداری شد. حدود ۱۰ روز بعد بذرهای جوانه زده یکنواخت جدا شده و در گلدان‌های یک کیلوگرمی حاوی مخلوطی از ماسه شسته شده و خاک بکر سترون (به نسبت ۱:۲) کاشته شد.

مایه زنی با متیل جاسمونات و فیتوفتورا

گیاهچه‌های یک ماهه با غلظت‌های ۲۵، ۵۰ و ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم متیل جاسمونات در کیلوگرم خاک مایه‌زنی شده و پس از آن، قارچ *Ph. drechsleri* روی ریشه نهال‌ها مایه‌زنی گردید. تکثیر مایه قارچ روی دانه‌های گندم استریل انجام شد. برای مایه‌زنی گلدان‌ها، ابتدا مقداری از خاک سطحی گلدان‌ها برداشته شده تا ریشه نهال‌های نمایان شوند. برای هر نهال ۱۰ گرم دانه گندم کلنیزه شده در کنار ریشه‌ها ریخته شده و سپس خاک برداشته شده از گلدان‌ها، روی مایه قارچ ریخته شد. با افزودن آب، گلدان‌ها به صورت غرقاب در آمده و یک شب در این حالت قرار گرفتند که پس از آن با ایجاد یک سوراخ کوچک، آب اضافی از ته گلدان‌ها خارج شد. مقداری از این زه آب برای ردیابی زئوسپورهای قارچ مورد استفاده قرار گرفت (Bani Hashemi, 2004). برای ارزیابی میزان بیماری، پس از برداشت گیاه و شستشوی ریشه‌ها، تعداد ۴۰ قطعه یک سانتیمتری از ریشه‌ها به صورت تصادفی جدا شده و پس از شستشو با آب، روی محیط کشت CMA-PARP کشت داده شد و با شمارش قطعات کلنیزه شده با قارچ، درصد کلنیزاسیون ریشه‌ها محاسبه گردید. وزن خشک اندام هوایی و ریشه‌ها نیز به صورت جداگانه با استفاده از آون ۱۰۵ درجه سانتیگراد محاسبه گردید. در این آزمایش، میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (Aebi, 1984)، پراکسیداز (Polle et al., 1994) و فنیل آلانین آمونیالایز (Zheng et al., 2005) نیز بر اساس منابع موجود اندازه گیری شد.

استخراج پروتئین‌های ریشه

دو گرم از ریشه‌ها به صورت تصادفی انتخاب شده و برای استخراج پروتئین‌ها و اندازه گیری آنزیم‌های مختلف در دمای ۲۰ - درجه سانتیگراد نگهداری شدند. در این تحقیق برای استخراج پروتئین‌ها از روش Garmendia همکاران در سال ۲۰۰۴ استفاده شد (Garmendia et al., 2004).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در نمونه‌ها با استفاده از روش Aebi در سال ۱۹۸۴ و بر اساس سرعت تخریب H_2O_2 اندازه‌گیری شد (Aebi et al., 1984). همچنین برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گلوایکول پراکسیداز (GPX) از روش Polle و همکاران در سال ۱۹۹۴ استفاده گردید (Polle et al., 1994). برای فعالیت فنیل آلانین آمونیالیز (PAL) استفاده از روش Zheng در سال ۲۰۰۵ به کار گرفته شد (Zheng et al., 2005).

نتایج

وزن خشک اندام هوایی

با افزایش غلظت جاسمونیک اسید (JA)، وزن خشک اندام هوایی در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری نشان نداد (شکل ۱). مایه زنی *P. drechsleri* (Pd) نیز نتوانست موجب کاهش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی در مقایسه با شاهد شود. در تیمارهای برهمکنش JA و Pd نیز وزن خشک اندام هوایی در مقایسه با تیمار مایه‌زنی با Pd افزایش نشان داد اما این افزایش در سطح ۱ درصد معنی‌دار نبود. همین روند در غلظت‌های مختلف متیل جاسمون (MJ) و برهمکنش آن با Pd مشاهده گردید.



شکل ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف جاسمونیک اسید (JA) و متیل جاسمون (MJ) و برهمکنش آن‌ها با *Phytophthora drechsleri* (Pd) بر وزن خشک اندام هوایی نهال‌های پسته بادامی زرد.

وزن خشک ریشه

نتایج این تحقیق نشان داد که، با افزایش غلظت JA و MJ وزن خشک ریشه در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. همچنین مایه زنی Pd نیز نتوانست موجب کاهش معنی‌دار وزن خشک ریشه شود. در تیمارهای برهمکنش JA و MJ با Pd نیز وزن خشک ریشه گرچه در مقایسه با تیمار مایه‌زنی با Pd به تنهایی افزایش نشان داد (شکل ۲).



شکل ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف جاسمونیک اسید (JA) و متیل جاسمونیت (MJ) و برهمکنش آن‌ها با *Phytophthora drechsleri* بر وزن خشک ریشه نهال‌های پسته بادامی زرد (Pd).

میزان کلنیزاسیون بیمارگر در ریشه نهال‌های پسته

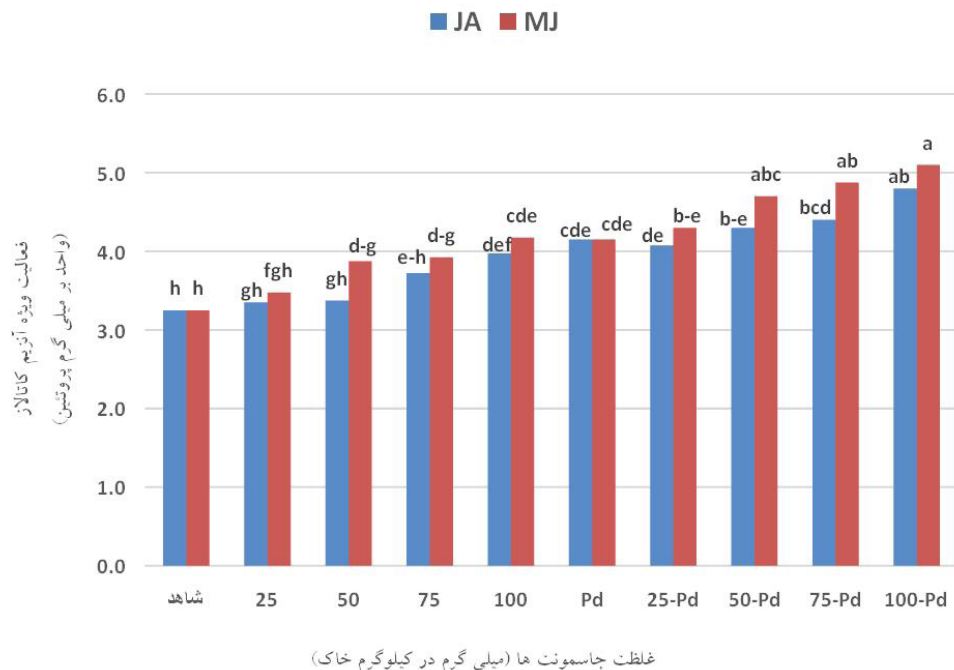
بر اساس نتایج در تیمارهای برهمکنش JA و Pd با افزایش غلظت JA میزان کلنیزاسیون بیمارگر در ریشه نهال‌های پسته بادامی زرد روند کاهشی نشان داد که این کاهش در غلظت‌های ۵۰ تا ۱۰۰ میلی گرم JA در کیلوگرم خاک دارای اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد با تیمار مایه زنی با Pd به تنهایی بود. کمترین میزان کلنیزاسیون ریشه در تیمار ۱۰۰ میلی گرم بادامی زرد به طور معنی داری در مقایسه با تیمار مایه زنی با Pd به تنهایی کاهش یافت که در غلظت ۱۰۰ میلی گرم MJ در کیلوگرم خاک، کمترین درصد کلنیزاسیون ریشه مشاهده گردید (شکل ۳).



شکل ۳- درصد کلنیزاسیون ریشه به وسیله بیمارگر در تیمار برهمکنش غلظت‌های مختلف جاسمونیک اسید (JA) و متیل جاسمونت (MJ) با *Phytophthora drechsleri* (Pd)

فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز

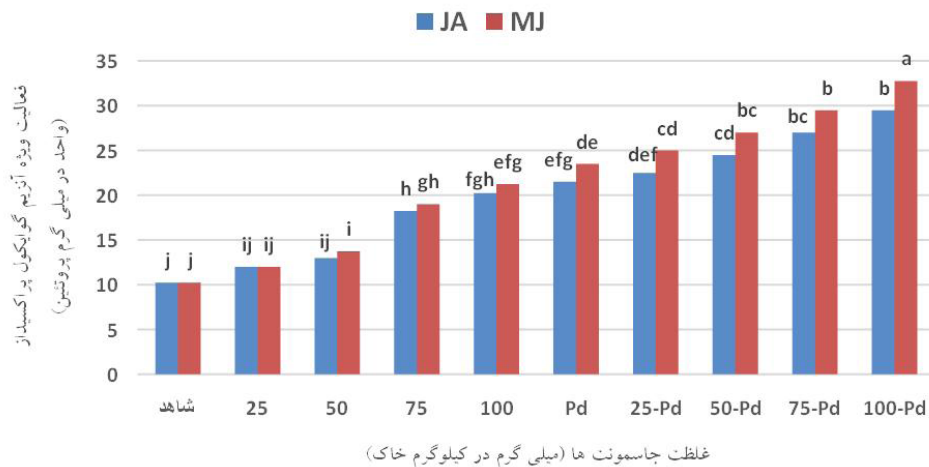
نتایج نشان داد که، با افزایش غلظت JA فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز (CAT) در مقایسه با شاهد افزایش یافت اما این افزایش تنها در غلظت ۱۰۰ میلی گرم JA در کیلوگرم خاک دارای اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد با شاهد بود. مایه زنی Pd نیز فعالیت ویژه این آنزیم را به طور معنی داری در مقایسه با شاهد افزایش داد. در تیمارهای برهمکنش JA و Pd نیز فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز در مقایسه با تیمار مایه زنی با Pd افزایش یافت که این افزایش تنها در غلظت ۱۰۰ میلی گرم JA در کیلوگرم خاک اختلاف معنی دار در سطح ۱ درصد نشان داد. فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز در تیمارهای برهمکنش JA با Pd در مقایسه با تیمارهای JA به تنهایی به طور معنی داری بالاتر بود (شکل ۴). مایه زنی نهال‌های پسته بادامی زرد با غلظت‌های مختلف MJ موجب افزایش فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز گردید که این افزایش فعالیت در غلظت‌های ۵۰ تا ۱۰۰ میلی گرم MJ در کیلوگرم خاک دارای اختلاف معنی دار با شاهد در سطح ۱ درصد بود فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز در تیمار مایه زنی با Pd نیز به طور معنی داری در مقایسه با شاهد بالاتر بود. در تیمارهای برهمکنش غلظت‌های ۵۰ تا ۱۰۰ میلی گرم MJ در کیلوگرم خاک نیز فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز در مقایسه با تیمار مایه زنی با Pd به تنهایی به طور معنی داری بالاتر بود. همچنین فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز در تیمارهای برهمکنش MJ و Pd به طور معنی داری در مقایسه با تیمارهای مایه زنی با MJ به تنهایی بالاتر بود که این موضوع تاثیر مایه زنی بیمارگر بر فعالیت این آنزیم را نشان می‌دهد (شکل ۴).



شکل ۴- تاثیر غلظت‌های مختلف جاسمونیک اسید (JA) و متیل جاسمونیت (MJ) و برهمکنش آن‌ها با *Phytophthora drechsleri* (Pd) بر فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز در اندام هوایی نهال‌های پسته بادامی زردند.

فعالیت ویژه آنزیم گوایکول پراکسیداز

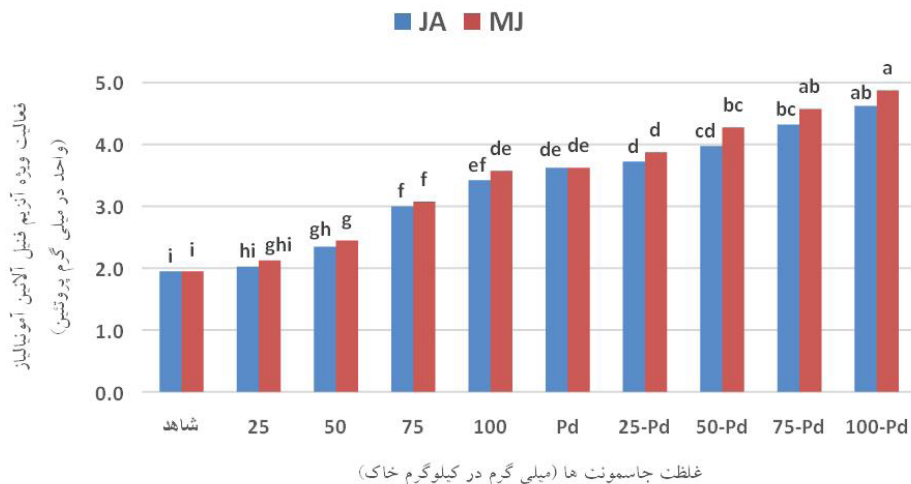
بر اساس نتایج، با افزایش غلظت JA فعالیت ویژه آنزیم گوایکول پراکسیداز (POD) نیز افزایش یافت که این افزایش در غلظت های ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم JA در کیلوگرم خاک دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد با شاهد بود (شکل ۵). مایه زنی Pd نیز موجب افزایش معنی‌دار فعالیت ویژه آنزیم گوایکول پراکسیداز در مقایسه با شاهد گردید. در تیمارهای برهمکنش غلظت‌های ۵۰ تا ۱۰۰ میلی گرم JA و Pd نیز فعالیت ویژه این آنزیم در مقایسه با تیمار مایه‌زنی با Pd به تنهایی به طور معنی‌داری بالاتر بود. همچنین فعالیت ویژه آنزیم گوایکول پراکسیداز در تیمارهای برهمکنش JA و Pd در مقایسه با تیمارهای مایه زنی با JA به تنهایی به طور معنی‌داری بالاتر بوده و اختلاف معنی‌داری را در سطح ۱ درصد نشان داد (شکل ۵). افزایش غلظت MJ نیز فعالیت ویژه آنزیم گوایکول پراکسیداز را افزایش داد که این افزایش در غلظت‌های ۵۰ تا ۱۰۰ میلی گرم MJ در کیلوگرم خاک دارای اختلاف معنی‌دار با شاهد بود. مایه زنی Pd نیز فعالیت ویژه آنزیم گوایکول پراکسیداز را به طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد افزایش داد. همچنین با افزایش غلظت MJ، فعالیت ویژه آنزیم گوایکول پراکسیداز در تیمارهای برهمکنش MJ و Pd در مقایسه با تیمار مایه زنی با Pd به تنهایی افزایش یافت علاوه بر اینکه فعالیت ویژه این آنزیم در تیمارهای برهمکنش Pd و MJ به طور معنی‌داری در مقایسه با تیمارهای مایه‌زنی با MJ به تنهایی بالاتر بود (شکل ۵).



شکل ۵-تاثیر غلظت های مختلف جاسمونیک اسید (JA) و متیل جاسمونت (MJ) و برهمکنش آن ها با *Phytophthora drechsleri* (Pd) بر فعالیت ویژه آنزیم گلیکول پراکسیداز در لندام هوابی نهال های پسته بادامی زرند.

فعالیت ویژه آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز

نتایج پژوهش نشان داد که، با افزایش غلظت JA فعالیت ویژه آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز به طور معنی داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت. در تیمار مایه زنی با Pd نیز فعالیت ویژه آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز در مقایسه با شاهد افزایش یافت (شکل ۶). روند افزایش فعالیت ویژه آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز در تیمارهای برهمکنش JA و Pd نیز مشاهده شد که در این تیمارها فعالیت ویژه آنزیم در غلظت های ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم JA در کیلوگرم خاک دارای اختلاف معنی دار با تیمار مایه زنی با Pd بود. همچنین مقایسه تیمارهای برهمکنش JA و Pd با تیمارهای مایه زنی با JA به تنهایی نشان داد که فعالیت ویژه آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز در تیمارهای برهمکنش JA و Pd به طور معنی داری بالاتر می باشد (شکل ۶). تیمارهای مختلف MJ نیز موجب افزایش فعالیت ویژه آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز گردید که این افزایش در غلظت های ۵۰ تا ۱۰۰ میلی گرم MJ در کیلوگرم خاک به طور معنی دار بیشتر از شاهد بود (شکل ۶). مایه زنی Pd نیز فعالیت ویژه این آنزیم را در مقایسه با شاهد به طور معنی داری افزایش داد. در تیمارهای برهمکنش غلظت های ۵۰ تا ۱۰۰ میلی گرم MJ در کیلوگرم خاک و Pd فعالیت ویژه آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز به طور معنی داری بالاتر از تیمار مایه زنی با Pd به تنهایی بود و بیشترین میزان فعالیت ویژه این آنزیم در غلظت های ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم MJ در کیلوگرم خاک مشاهده گردید. در تیمارهای MJ نیز فعالیت ویژه آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز در تیمارهای برهمکنش MJ و Pd به طور معنی داری بالاتر از تیمارهای مایه زنی با MJ به تنهایی بود (شکل ۶).



شکل ۶- تاثیر غلظت‌های مختلف جاسمونیک اسید (JA) و متیل جاسمون (MJ) و برهمکنش آن‌ها با *Phytophthora drechsleri* بر فعالیت ویژه آنزیم فنیل آلانین آمونیاز (PAL) در اندام هوایی نهال‌های پسته بادامی زرد.

بحث و نتیجه‌گیری

برخی ترکیبات فنلی از جمله جاسمونیک اسید علاوه بر نقش مستقیم در القای مقاومت، نقش ایجاد سیگنال در مقاومت سیستمیک و نقش محرک در بروز مقاومت به ویژه القای پروتئین مرتبط با بیماری‌زایی و افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیاز را ایفا می‌کند. در بررسی‌ها عنوان شده است که کاربرد متیل جاسمون می‌تواند با القای واکنش‌های دفاعی و افزایش ترکیبات فنلی و آنزیم‌های دفاعی نظیر پروکسیداز و لیپوکسیژناز مقاومت گیاه گندم را برابر بیماری‌های خاکزی از جمله پوسیدگی طوقه و ریشه *Fusarium culmorum* افزایش دهد. این مساله به این دلیل است که متیل جاسمون می‌تواند ژن‌ها یا پروتئین‌های دخیل در سنتز فنل‌ها را تنظیم کند (motallebi et al., 2015). در تحقیقات خانپور اردستانی و همکاران در بررسی اثر متیل جاسمون بر فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی اکسیدان نشان داد که تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز در کشت سلولی از روز هفتم به بعد در نمونه‌های تیمار شده رو به افزایش است. در تحقیق حاضر اثر متیل جاسمون و فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد که در گیاهان تیمار مایه زنی شده با Pd تنها در غلظت ۱۰۰ میلی گرم متیل جاسمون بر کیلوگرم خاک افزایش معنی‌داری دارد، که با نتایج محققین مطابقت دارد (khanporardestani et al., 2013). در مطالعه شریفی و همکاران روی بررسی نقش ترکیبات فرار از جمله متیل جاسمون به عنوان یک هورمون در بررسی القاء مقاومت علیه *Botrytis cinerea* در آراییدوسیس عنوان کردند که اثر ترکیبات فرار در رشد میسلیوم *B. cinerea* در تیمارهای متیل جاسمون و متیل سالیسیلات مشاهده شد که باعث افزایش تحریک رشد قارچ شده اند. هر دو این ترکیبات از هورمون‌های کلاسیک معروف در فعال‌سازی مسیرهای مقاومت گیاهان هستند. در حالیکه همین ترکیب متیل جاسمون بیشترین اثر را روی افزایش مقاومت علیه *B. cinerea* نشان دادند. گزارشات متعددی وجود دارد که این ترکیب به عنوان سیگنال میزبان برای القاء ISR می‌باشد و نقش آن به عنوان مولکول سیگنال به اثبات رسیده است. در مجموع دوز پایین برخی ترکیبات فرار خاص می‌تواند به عنوان مولکول سیگنال روی فنولوژی و بیماری‌زایی قارچ از یک طرف و دفاع گیاه میزبان از طرف دیگر اثر داشته باشد. با توجه به متحمل بودن دوزهای پایین در

طبیعت به نظر می‌رسد مکانیسم اصلی بازدارندگی بیمارگر به وسیله ترکیبات فرار به علت ماهیت سیگنالی این ترکیبات در القا مقاومت سیستمیک باشد تا بازداري مستقیم از رشد قارچ بیمارگر (Sharifi et al., 2013). نتایج بانثی و همکاران در بررسی القای مقاومت گندم به بیماری پاخوره با کاربرد متیل جاسمونات و چند گونه قارچ میکوریز نشان داد که غلظت ۱/۵ میلی مولار متیل جاسمونات در القای مقاومت بیشتری تاثیر را داشته است (Banshi and Mohamadi, 2017). نتایج پژوهش‌های مطلبی و همکاران نشان داد که کاربرد متیل جاسمونات میزان فنل کل و آنزیم‌های دفاعی نظیر کاتالاز و پروکسیداز را در گیاه گندم رقم فلات و پیش‌تاز آلوده به *F. culmorum* افزایش داده است (Motallebi et al., 2015). که با نتایج تحقیق حاضر در کاربرد متیل جاسمونات و اسید جاسمونیک در افزایش آنزیم‌های مقاومت در بعضی از غلظت‌ها روی بیمارگر خاکزی فیتوفترا مطابقت دارد. بنابراین محرک اسید جاسمونیک و متیل جاسمونات باعث افزایش آنزیم‌های مقاومت می‌شوند. بنابراین می‌توان استفاده از آن‌ها را در کنترل بیولوژیک بیمارگرهای خاکزی پیشنهاد کرد تا از مصرف بی‌رویه سموم و مقاومت به قارچ‌کش‌ها و تخریب محیط زیست تا حدودی جلوگیری شود.

منابع

1. Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105: 121-126.
2. Ahmad, P., Rasool, S., Gul, A., Sheikh, S.A., Akram, N.A., Ashraf, M., and Gucel, S. 2016. Jasmonates: multifunctional roles in stress tolerance. *Frontiers in plant science*, 7: 813.
3. Baneshi, A. and Mohammadi, S. 2017. Induced resistance in take-all infected wheat using methyl jasmonate and Glomus. *Agroecology Journal*, 12(4): 39-47. (In Persian).
4. Banihashemi, Z. 1994. Identification of *Phytophthora* species associated with pistachio gummosis in southern Iran. *Acta Horticulturae (ISHS)*, 419: 349-352.
5. Banihashemi, Z. 2004. A method of monitor the activity of *Phytophthora* spp. in the root zone of *Pistacia* spp. *Phytopathologia Mediterranea*, 43: 411-414.
6. Edreva, A. 2004. A novel strategy for plant protection: Induced resistance. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 3: 61-69.
7. Garmendia, I., Goicoechea, N. and Aguirreolea, J. 2004. Effectiveness of three Glomus species in protecting pepper (*Capsicum annuum* L.) against verticillium wilt. *Biological control*, 31(3): 296-305.
8. Hashemi, M and Mirdehghan, S.H. 2014. Effect of salicylic acid, Methyl jasmonat and some essential oils on quality and vase-life of carnation cut flower 'cano cultivar' in different temperatures. *Journal Plant Production Research*, 21 (3). (In Persian).
9. Khanpour-Ardestani, N., Sharifi, M. and Behmanesh, M. 2013. Effect of methyl jasmonat on antioxidant enzyme activities, phenolic and flavonoid compounds in *Scrophularia striata* cell culture. *Journal of Plant Research*, 27(5). (In Persian).
10. Konan, Y.K.F., Kouassi, K.M., Kouakou, K.L., Koffi, E., Kouassi, K.N., Sekou, D. and Kouakou, T.H. 2014. Effect of Methyl jasmonate on phytoalexins biosynthesis and induced disease resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* in Cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *International Journal of Agronomy*, 14: 66- 77.
11. Meir, S.H., Droby, S., Davidson, H., Alsevia, S.H., Cohen, L., Horev, B., and Hadas, S. 1998. Suppression of Botrytis rot in cut rose flowers by postharvest application of methyl jasmonate. *Postharvest Biol. Technol.*, 13: 235-243.
12. Mirabolfathy, M., Cooke, D.E., Duncan, J.M., Williams, N.A., Ershad, D. and Alizadeh, A. 2001. *Phytophthora pistaciae* sp. nov. and *P. melonis*: the principal causes of pistachio

- gummosis in Iran. Mycological Research, 105: 1166-1175
13. Moradi, M. 2015. Assessment of application of systemic and protective fungicides for long-term control of pistachio crown and root rot. Final Report of Iranian Pistachio Research Institute 2-06-06- 88008. (In Persian). ACIST Register Number, 47569
 14. Mostowfizadeh-Ghalamfarsa, R., Cooke, D.E. and Banihashemi, Z. 2008. *Phytophthora parsiana* sp. nov., a new high-temperature tolerant species. Mycological Research, 112: 783-794.
 15. Motallebi, P., Niknam, V., Ebrahimzadeh, H., Enferadi, S.T. and Hashemi, M. 2015. The effect of methyl jasmonate on enzyme activities in wheat genotypes infected by the crown and root rot pathogen *Fusarium culmorum*. Acta physiologiae plantarum, 37(11): 237.
 16. Polle, A., Otter, T. and Seifert, F. 1994. Apoplastic peroxidases and lignifications in needles of Norway Spruce *Picea abies* L. Plant Physiology, 106: 53-60.
 17. Reyes-Díaz, M., Lobos, T., Cardemil, L., Nunes-Nesi, A., Retamales, J., Jaakola, L. and Ribera-Fonseca, A. 2016. Methyl jasmonate: An alternative for improving the quality and health properties of fresh fruits. Molecules, 21(6): 567.
 18. Sharifi, R., Ahmadzadeh, M., Behboudi, K. and Ryu, Ch.M. 2013. Role of *Bacillus subtilis* Volatiles in Induction of Systemic Resistance in Arabidopsis. Iranian Journal of Plant Protection Science, 44 (1). (In Persian)
 19. Sticher, L., Mauch-Mani, B. and Metraux, J.P. 1997. Systemic acquired resistance. Annual Review of Phytopathology, 35: 235-270.
 20. Zhang, S., Reddy, M.S., Kokalis-Burelle, N., Wells, L.W., Nightengale, S.P. and Kloepper, J.W. 2005. Lack of induced systemic resistance in peanut to late leaf spot disease by plant growth promoting rhizobacteria and chemical elicitors. Plant disease, 85: 879-884.