

بررسی اثر قارچ *Trichoderma harizianum* T22 و باکتری *Thiobacillus spp.* روی برخی

شاخص‌های فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و رشدی گیاه گوجه‌فرنگی، *Lycopersicon*

esculentum تحت تنش زیستی آفت کرم میوه، *Helicoverpa armigera*

نجمه بدخشان^۱، سید مظفر منصوری^{۱*}، حسین مظفری^۲ و محسن مهرپرور^۱

^۱ ایران، کرمان، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، گروه تنوع زیستی

^۲ ایران، کرمان، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، گروه اکولوژی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۲/۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۲/۱۷

چکیده

میکروب‌های مفید شامل قارچ‌ها و باکتری‌ها می‌توانند به روش‌های مختلف شامل افزایش جذب مواد مغذی و تولید متابولیت‌های ثانویه، آنزیم‌های اکسیداسیون، ترکیبات آلی فرار و هورمون‌های رشد سلامتی گیاهان را بهبود بخشند. این عوامل موجب تقویت سیستم دفاعی گیاه می‌شوند. در این پژوهش تاثیر قارچ *Trichoderma harizianum* T22 و باکتری‌های جنس *Thiobacillus spp.* بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی و رشدی در گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش زیستی آفت کرم میوه گوجه‌فرنگی *Helicoverpa armigera* در شرایط گلخانه‌ای مورد مطالعه قرار گرفت. با ارزیابی و مقایسه گیاهان گوجه‌فرنگی تیمار شده با میکروارگانیسم‌های قارچ تریکودرما و باکتری تیوباسیلوس مشخص شد که گیاهان سالم تیمار شده با قارچ *T. harizianum* نسبت به گیاهان شاهد که هیچگونه تیماری دریافت نکردند، میزان ترکیبات فنلی کل، میزان قندهای محلول، کلروفیل کل، کارتنوئید و حجم ریشه بیشتری دارا بودند. نتایج در مورد گیاهان تیمار شده با مخلوط باکتری‌های تیوباسیلوس نیز نشان داد که میزان تولید پراکسید هیدروژن، کلروفیل کل، کارتنوئید و حجم ریشه در گیاهان تیمار شده با باکتری به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان شاهد بود. همچنین نتایج نشان داد که گیاهان تحت تنش تغذیه لارو آفت به شدت به آن واکنش نشان داده‌اند و تولید آنزیم‌های مهم اکسیداسیون از جمله آنزیم پلی فنل اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در این گیاهان نسبت به گیاهان بدون آفت به طور معنی‌داری افزایش یافته است.

واژه‌های کلیدی: فراورده‌های بیولوژیک، *Helicoverpa armigera*، آنزیم‌های اکسیداسیون، فنل، پراکسید هیدروژن، حجم

ریشه

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۳۱۹۷۳۵۰۵، پست الکترونیکی: m.mansouri@kgut.ac.ir

مقدمه

محسوب نمود. گونه‌های میزبان این آفت از طیف وسیعی از تیره‌های گیاهی شامل سیب‌زمینی، پنبه، ذرت، نخود، سورگوم، آفتابگردان، سویا، بادام زمینی، توتون، گلرنگ و پسته می‌باشند (۱۵) و خسارت ناشی از این آفت روی گوجه‌فرنگی در حالت طغیانی بین ۸۵ تا ۹۳ درصد گزارش شده است (۱۴). کرم میوه گوجه‌فرنگی در مراحل

گوجه‌فرنگی *Lycopersicon esculentum* Miller یکی از مهم‌ترین سبزیجات در دنیا محسوب می‌شود که از نظر کشت بعد از سیب زمینی مقام دوم را به خود اختصاص داده است (۲۳). کرم میوه گوجه‌فرنگی، *Helicoverpa armigera* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae) را می‌توان مخرب‌ترین آفت گوجه‌فرنگی در جهان و ایران

رشدی مختلف می‌تواند روی اغلب ساختارهای گیاهی شامل ساقه‌ها، برگ‌ها، تاج گل و میوه‌ها تغذیه کند (۱۷). لاروهای این آفت با تغذیه از اندام‌های رویشی و زایشی گیاهان میزبان، سبب کاهش رشد اندام‌های زایشی و در نتیجه کاهش شدید میزان تولید محصول می‌شوند (۹، ۱۱، ۳۳).

گیاهان در مقابل تنش‌های غیر زیستی محیطی و نیز تنش‌های زیستی از جمله پاتوژن و آفات از مکانیسم‌های متفاوتی برای دفاع از خود و مقاومت در برابر عامل مهاجم استفاده می‌کنند (۲۸). مقاومت به طور مستقیم با فیزیولوژی گیاه مرتبط است و در نتیجه هر عاملی که فیزیولوژی گیاه را تحت تاثیر قرار دهد، منجر به تغییراتی در فرایندهای بیوشیمیایی گیاه و در نتیجه تغییر در مقاومت گیاه گردد (۶ و ۲۵). لذا مدیریت زراعی از جمله سطح و شیوه بهبود وضعیت تغذیه ای گیاهان احتمالاً می‌تواند بر مقاومت نسبی گیاهان به آفات و بیماری‌ها موثر باشند (۳ و ۳۱). از طرفی، عوامل متعددی بر عملکرد گیاه اثر دارند که از این میان نقش عوامل تغذیه ای بسیار مهم است و تغذیه متعادل با کودهای آلی و شیمیایی تاثیر قابل توجهی بر کیفیت و کمیت محصول دارد. این میکروارگانیزم‌ها با افزایش عملکرد گیاه روی زنده مانی، رشد و نمو و تولیدمثل حشراتی که از آن‌ها تغذیه می‌کنند تاثیر می‌گذارند. در کشاورزی امروزی با توجه به اثرات منفی کودهای شیمیایی، محققان سعی دارند از میکروارگانیزم‌های مفید مانند برخی قارچ‌ها و باکتری‌ها به منظور رفع این نقص، حذف تدریجی سموم و سایر آلاینده‌های خاک و کمک به حفظ سلامت گیاه استفاده نمایند (۱۲).

در طی چند سال اخیر چندین گونه باکتریایی و قارچی شناسایی شدند که در تحریک مقاومت گیاهان نقش اساسی دارند. در واقع فعال شدن مقاومت در اثر افزایش حساسیت سلول‌های گیاهی به هورمون‌های گیاهی پیام‌رسان می‌باشند که باعث پاسخ سریعتر و بهتر گیاه در مقابل عامل مهاجم

می‌گردد (۵). تحقیقات اخیر در زمینه استفاده از باکتری‌ها و قارچ‌های همزیست ریشه به عنوان کودهای زیستی نشان داده است که آنزیم‌ها و مولکول‌های دفاعی که در گیاهان در اثر القای مقاومت تولید می‌شوند، اثرات بازدارنده متفاوتی روی رشد و نمو آفات دارند و سبب مقاومت گیاهان در برابر آفات می‌شوند (۷ و ۳۲). این عوامل میکروبی خاک بر بهبود رشد گیاه و فعل و انفعالات گیاه و حشرات تاثیر می‌گذارد و در نتیجه باعث افزایش ذخیره مواد غذایی گیاهان در مقابل حشرات و در نتیجه تحمل بیشتر گیاه نسبت به خسارت آن‌ها می‌شود. میکروبی‌های مفید علاوه بر افزایش جذب مواد مغذی و آب، گیاه را تحریک می‌کند که باعث رشد مجدد بافت‌ها پس از گیاه-خواری می‌شوند، در نتیجه این مسئله جبران خسارت‌هایی را برای عملکرد گیاه یا زیست‌توده گیاه در حضور حشرات به وجود می‌آورد (۱۴، ۱۶، ۱۸). علاوه بر این، میکروبی‌های مفید با ایجاد کارایی بیشتر فتوسنتز، گیاه را قادر می‌سازد تا انرژی نورانی بیشتری را به شیره نباتی تبدیل کنند و در نتیجه گیاه بخشی از خسارت حشرات مکنده شیره نباتی را جبران می‌کند (۳۴). بنابراین، میکروبی‌ها می‌توانند به روش‌های مختلف سلامتی گیاهان را بهبود بخشند که شامل افزایش جذب مواد مغذی و تولید متابولیت‌های ثانویه، آنزیم‌ها، ترکیبات آلی فرار و هورمون‌های رشد است. همه این مواد به طور مستقیم یا غیرمستقیم باعث ایجاد مقاومت اکتسابی سیستمیک (ISR) در گیاهان در برابر حشرات گیاه‌خوار می‌شوند.

یکی از جنس‌های قارچ مفید که به جذب بیشتر مواد غذایی به ریشه گیاهان کمک می‌کند جنس *Trichoderma* است که پتانسیل تولید اسپور فراوان را دارد و به عنوان محصول تجاری در دسترس است (۳۸). یکی از معمول ترین گونه‌های قارچ‌های مفید گونه‌های مختلف تریکودرما می‌باشند که در اغلب خاک‌های دنیا است و جدایه‌های مختلف آن دارای توانایی بازدارندگی از رشد و تکثیر قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی را دارند (۱۰ و ۲۰). به طور

ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه پرورش داده شدند. این تحقیق در سال ۱۳۹۹ در گلخانه تحقیقاتی و آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته در مجاورت شهر ماهان شهرستان کرمان انجام شد.

پرورش کرم میوه گوجه‌فرنگی: در اواسط فصل بهار لاروهای آفت از مزارع گوجه‌فرنگی در منطقه ماهان واقع در ۳۰ کیلومتری شهر کرمان جمع‌آوری شدند و با قرار دادن در ظروف پلاستیکی با درپوش توری ریز به اتاقک رشد در شرایط دمایی 1 ± 25 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 5 ± 65 درصد و دوره‌ی روشنایی ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند. این حشرات به مدت دو نسل روی برگ و میوه گیاه گوجه‌فرنگی پرورش داده شدند.

پس از تفریح تخم‌های حشرات بالغ نسل دوم، لاروهای سن اول توسط قلم‌موی ظریف درون ظروف پلاستیکی (قطر ۱۹/۵ و ارتفاع ۷/۵ سانتی‌متر) برای نگهداری گروهی روی ارقام مختلف گوجه‌فرنگی منتقل شدند. در قسمت درپوش ظروف پرورش لاروها به منظور تامین تهویه، سوراخ‌هایی ایجاد و با توری ۵۰ مش پوشانده شد. از لاروهای سن سوم برای انجام آزمایش اصلی و قراردادن روی میوه‌های گیاهان تیمار شده و شاهد جهت تغذیه آفت استفاده شد.

طراحی آزمایش: بعد از انجام عملیات تنک، تغذیه تمام گلدان‌های گیاه گوجه‌فرنگی به‌طور منظم تا پایان آزمایشات گلخانه‌ای به فاصله هر ۱۵ روز یک‌بار با محلول کود N, P, K (برند شرکت امکس) به نسبت دو گرم در یک لیتر آب به صورت افزودن به خاک اطراف ریشه انجام شد. در این پژوهش برای تیمار قارچ از تیمار قارچ سوبه *T. harzianum* T22 در قالب فرم تجاری آن به نام TRIANUM-P® ساخت شرکت کوپرت هلند به صورت اسپور استفاده شد و در آزمایشگاه به صورت سوسپانسیون

نمونه مواد بیوشیمیایی تولید شده از جدایه‌های گونه *Trichoderma harzianum* به عنوان محرک رشد گیاهان در غلظت‌های پائین شناخته شده است (۳۸). مهم‌ترین گونه‌های گروه باسیلوس‌ها باکتری‌های جنس تیوباسیلوس می‌باشند. اکسیداسیون گوگرد به طور عمده توسط گونه‌های شیمیوسنتزکننده تیوباسیلوس انجام می‌شود (۳۹).

با توجه به اهمیت استفاده از فراورده‌های بیولوژیک در جهت بهبود کیفیت خاک زراعی و کاهش مصرف سموم و کودهای شیمیایی و همچنین اثرات اثبات شده تاثیر اینگونه مواد بیولوژیک بر تحریک و تقویت سیستم ایمنی گیاهان در مقابل عوامل بیماریزا و آفات مختلف هدف از انجام این پژوهش بررسی تاثیر جدایه *T. harzianum* T22 و باکتری‌های جنس *Thiobacillus* روی میزان رشد و عملکرد گیاه گوجه‌فرنگی تحت تنش خسارت و تغذیه آفت کرم میوه گوجه‌فرنگی در شرایط گلخانه‌ای بود. در این راستا شاخص‌های مختلف رشدی و بیوشیمیایی گیاهان تیمار شده با گیاهان شاهد مورد مقایسه قرار گرفتند.

مواد و روشها

کشت گیاه گوجه فرنگی: بذر گوجه‌فرنگی، *Lycopersicon esculentum* رقم فلات از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. بذور مورد نظر در ابتدا به مدت ۴۸ ساعت در محلول محرک جوانه‌زنی به نام اکتیواتور خیسانده شدند. خاک آزمایشی از مخلوطی از کوکوپیت، پرلیت و ماسه بادی به نسبت ۱:۱:۱ تهیه و داخل گلدان‌های پلاستیکی دو لیتری انتقال داده شد. سپس خاک گلدان‌ها آبیاری شد و در مرحله بعد در هر گلدان ۴ بذر به فاصله معین در عمق نیم سانتی متر از سطح خاک کشت شد، پس از رشد گیاهچه‌ها در هرگلدان یک گیاهچه سالم و شاداب حفظ و بقیه حذف شدند. همه گیاهان در شرایط گلخانه‌ای با شرایط دمایی 5 ± 25 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 5 ± 50 درصد و دوره نوری ۱۶

و کارنتونید (۱۹)، میزان تجمع پراکسید هیدروژن (۳۲)، ترکیبات فنلی کل (۲۹) و قندهای محلول (۳۰) در برگ همه گیاهان تیمار شده با قارچ، باکتری و شاهد و با روش اسپکتروفوتومتری اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش، آزمایش‌ها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. تجزیه داده‌های حاصل از آزمایش به وسیله نرم‌افزار SPSS 22 انجام شد و میانگین تیمارها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($p \leq 0.05$) مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج

ارتفاع بوته: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تاثیر تیمارهای آزمایشی روی طول بوته تیمارهای مختلف در گیاهان با تغذیه حشره و گیاهان سالم و هم چنین اثرات متقابل بین آن‌ها در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. همانگونه که در شکل ۱ مشخص شده است میزان طول بوته در گیاهان سالم تحت تیمار باکتری‌های *Thiobacillus* spp. به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان سالم تحت تنش تغذیه لارو کرم میوه گوجه‌فرنگی در همان تیمار است. در بین گیاهان شاهد و تیمار شده با قارچ تریکودرما تفاوت معنی‌داری بین گیاهان سالم و آلوده به آفت تفاوت معنی‌داری بین طول بوته‌ها مشاهده نشد.

طول ریشه: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تاثیر تیمارهای آزمایشی بر طول ریشه تیمارهای مختلف در گیاهان با تغذیه حشره و گیاهان سالم و هم چنین اثرات متقابل بین آن‌ها در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. میزان طول ریشه در گیاهان سالم تحت تیمار باکتری‌های *Thiobacillus* spp. و قارچ تریکودرما و در گیاهان شاهد به طور معنی‌داری در گیاهان سالم بیشتر از گیاهان تحت تنش تغذیه لارو کرم میوه گوجه‌فرنگی در همان تیمارها بود (شکل ۲). بیشترین طول ریشه در گیاهان تیمار شده با

به نسبت پنج میلی‌گرم در یک لیتر آب تهیه شد و در یخچال نگهداری شدند. بدین منظور برای تهیه سوسپانسیون قارچ، مقدار ۵ گرم از اسپور تجاری در یک لیتر آب حل شد و سپس در زمان کاشت در محل کاشت بذور میزان ۳۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تهیه شده استفاده شد. همچنین برای تهیه محلول باکتری از فرم تجاری آن به نام THIOFER® به میزان پنج میلی‌لیتر در یک لیتر آب سوسپانسیون تهیه شد. در تیمارهای مربوط به باکتری میزان ۳۰ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده در محل کشت بذور استفاده شد. گیاهان شاهد نیز هیچگونه تیماری دریافت نکردند.

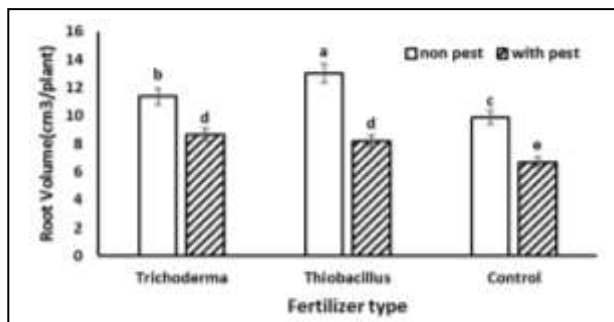
در مرحله رشد ۶ برگی گیاه گوجه فرنگی تعداد ۱۲۰ گلدان مشخص و کدگذاری شد، در این مرحله از آزمایش گلدان‌های گیاه گوجه فرنگی به سه گروه تقسیم بندی شدند، گلدان‌های گیاه تیمار شده با قارچ (۲۰ عدد با حضور آفت و ۲۰ عدد بدون آفت)، گلدان‌های تیمار شده با باکتری (۲۰ عدد با حضور آفت و ۲۰ عدد بدون آفت) و گلدان‌های شاهد نیز به تعداد ۲۰ عدد با حضور آفت و ۲۰ عدد بدون آفت بودند.

ارزیابی شاخص‌های رشدی گیاه: پس از پایان دوران لاروی و تغذیه لارو حشرات و جمع‌آوری آن‌ها از روی بوته‌های گوجه‌فرنگی، سپس در همه تکرارهای تیمارهای مختلف (در مجموع ۱۲۰ گیاه) ارتفاع بوته، طول و حجم ریشه (روش استوانه مدرج) اندازه‌گیری شدند. به این صورت که در حجم معینی از آب ریشه‌های قطع شده گیاهان شاهد و تیمار شده به صورت جداگانه و تکی قرار داده شد و سپس افزایش ایجاد شده در حجم آب استوانه به عنوان حجم ریشه در نظر گرفته شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی گیاه: بر اساس روش‌های استاندارد متداول فعالیت آنزیم‌های اکسیداسیون شامل آنزیم کاتالاز (۶)، پلی فنل اکسیداز (۲۲)، آسکوربات پراکسیداز (۲۶)، رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل کل

باکتری و بدون حضور آفت مشاهده شد و کمترین آن در گیاهان شاهد با حضور آفت مشاهده شد (شکل ۲).

Thiobacillus spp. به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان تحت تنش تغذیه لارو کرم میوه گوجه‌فرنگی در این تیمار است (شکل ۴). بیشترین طول ریشه در گیاهان تیمار شده با باکتری و بدون حضور آفت مشاهده شد و کمترین آن در گیاهان شاهد با حضور آفت مشاهده شد (شکل ۳).

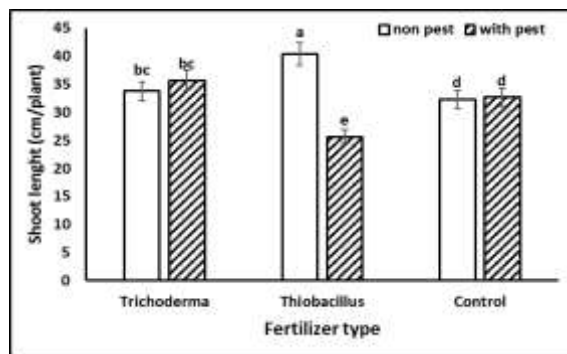


شکل ۳- اثر تیمارهای قارچ تریکودرما و باکتری‌های جنس تیوباسیلوس بر میزان حجم ریشه در گیاه گوجه‌فرنگی رقم فلات، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آماری و بررسی آزمون دانکن (۵ درصد) اختلافی ندارند.

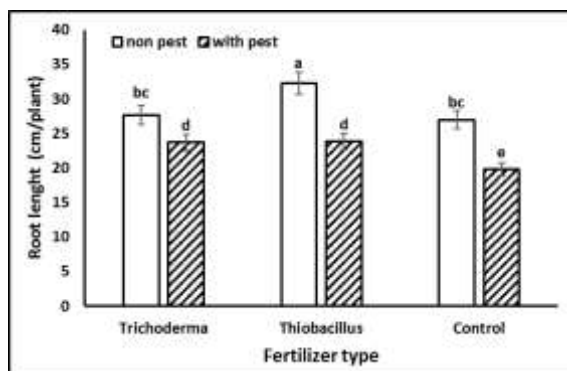


شکل ۴- سمت راست ریشه گیاه شاهد و سمت چپ ریشه گیاه تیمار شده با باکتری *Thiobacillus* spp.

شکل ۱- اثر تیمارهای قارچ تریکودرما و باکتری‌های جنس تیوباسیلوس بر میزان ارتفاع بوته در گیاه گوجه‌فرنگی رقم فلات، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آماری و بررسی آزمون دانکن (۵ درصد) اختلافی ندارند.



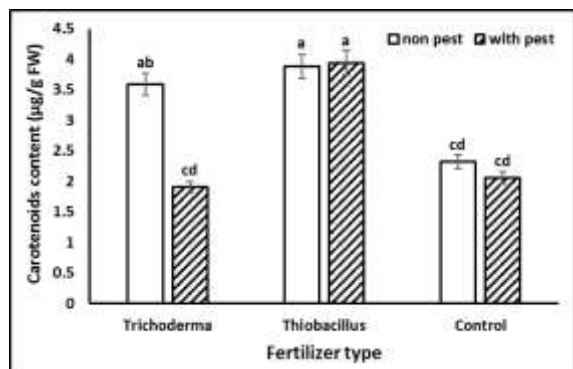
شکل ۲- اثر تیمارهای قارچ تریکودرما و باکتری‌های جنس تیوباسیلوس بر میزان ارتفاع بوته در گیاه گوجه‌فرنگی رقم فلات، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آماری و بررسی آزمون دانکن (۵ درصد) اختلافی ندارند.



شکل ۳- اثر تیمارهای قارچ تریکودرما و باکتری‌های جنس تیوباسیلوس بر میزان طول ریشه در گیاه گوجه‌فرنگی رقم فلات، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آماری و بررسی آزمون دانکن (۵ درصد) اختلافی ندارند.

حجم ریشه: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تاثیر تیمارهای آزمایشی روی میزان حجم ریشه تیمارهای مختلف در گیاهان با تغذیه حشره و سالم و هم چنین اثرات متقابل بین آن‌ها در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. همانگونه که در شکل ۳ مشخص شده است میزان حجم ریشه در گیاهان سالم تحت تیمار باکتری‌های

بین گیاهان شاهد و تیمار شده با باکتری تفاوت معنی داری بین گیاهان سالم و آلوده به آفت تفاوت معنی داری از این نظر مشاهده نشد (شکل ۶).

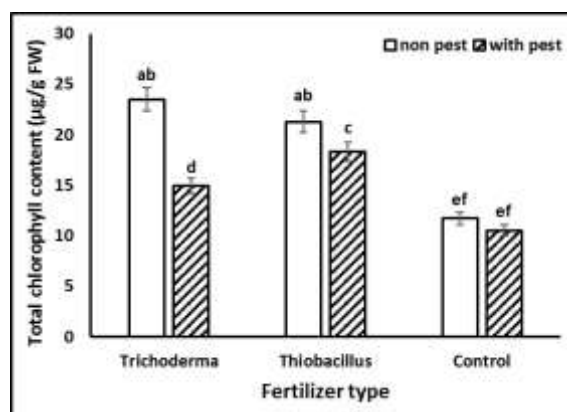


شکل ۶- اثر تیمارهای قارچ تریکودرما و باکتری‌های جنس تیوباسیلوس بر محتوای کارتنوئید در گیاه گوجه فرنگی رقم فلات، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آماری و بررسی آزمون دانکن (۵ درصد) اختلافی ندارند.

ترکیبات فنلی کل: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تاثیر تیمار مواد بیولوژیک (قارچ و باکتری) بر میزان ترکیبات فنلی کل گیاه تحت تیمارهای مختلف در گیاهان با تغذیه حشره و بدون آن (سالم) و هم چنین اثرات متقابل بین آن‌ها در سطح پنج درصد معنی دار بود. همانگونه که در شکل ۷ مشخص شده است میزان ترکیبات فنلی کل در گیاهان سالم تحت تیمار قارچ *T. harzianum* T-22 به طور معنی داری بیشتر از سایر تیمارهای آزمایشی هم در گیاهان سالم بدون آفت و هم گیاهان تحت تنش تغذیه لارو کرم میوه گوجه‌فرنگی است. در بین گیاهان تیمار شده با باکتری و گیاهان شاهد تفاوت معنی داری بین گیاهان سالم و آلوده به آفت مشاهده نشد (شکل ۷).

پراکسید هیدروژن (H_2O_2): نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تاثیر تیمار مواد بیولوژیک (قارچ و باکتری) بر میزان پراکسید هیدروژن در گیاه تحت تیمارهای مختلف در گیاهان با تغذیه حشره و بدون آن (سالم) و هم چنین اثرات متقابل بین آن‌ها در سطح پنج درصد معنی دار بود.

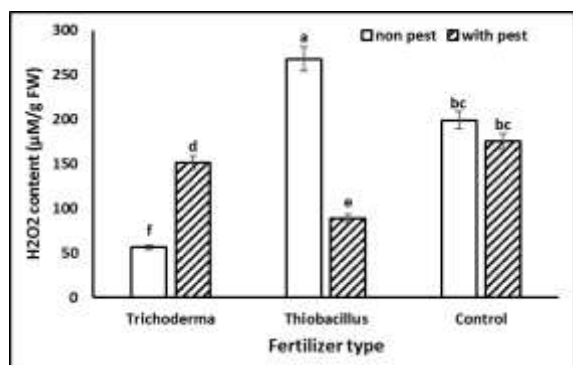
کلروفیل کل: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تاثیر تیمار مواد بیولوژیک بر میزان کلروفیل کل در گیاه تحت تیمارهای مختلف در گیاهان با تغذیه حشره و بدون آن (سالم) و همچنین اثرات متقابل بین آن‌ها در سطح پنج درصد معنی دار بود. میزان کلروفیل کل در گیاهان سالم تیمار شده با قارچ تریکودرما و نیز باکتری تیوباسیلوس زمانی که تحت تنش تغذیه لارو حشره آفت قرار نگرفتند به طور معنی داری بیشتر از گیاهان با تنش تغذیه آفت تیمار شده با این قارچ بود. در بین گیاهان شاهد بین گیاهان سالم و آلوده به آفت تفاوت معنی داری مشاهده نشد (شکل ۵).



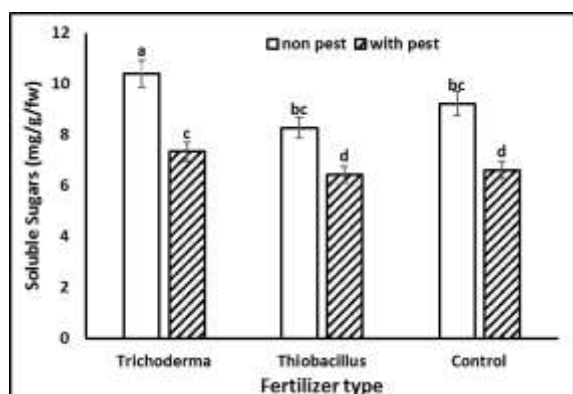
شکل ۵- اثر تیمارهای قارچ تریکودرما و باکتری‌های جنس تیوباسیلوس بر میزان کلروفیل کل در گیاه گوجه فرنگی رقم فلات، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آماری و بررسی آزمون دانکن (۵ درصد) اختلافی ندارند.

کارتنوئید: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تاثیر تیمار مواد بیولوژیک روی میزان کارتنوئید تیمارهای مختلف در گیاهان با تغذیه حشره و بدون آن (سالم) و هم چنین اثرات متقابل بین آن‌ها در سطح پنج درصد معنی دار بود. مشابه نتایج در مورد کلروفیل در رابطه با میزان کارتنوئید نیز در گیاهان سالم تیمار شده با قارچ تریکودرما زمانی که تحت تنش تغذیه لارو حشره آفت قرار نگرفتند میزان تولید کارتنوئید در آن‌ها به طور معنی داری بیشتر از گیاهان با تنش تغذیه آفت تیمار شده با این قارچ بود. در

است. بین گیاهان سالم در هر سه تیمار (قارچ، باکتری و شاهد) میزان قندهای محلول در گیاهان تحت تنش آفت به طور معنی‌داری کمتر از گیاهان سالم در همان تیمار بود (شکل ۹).

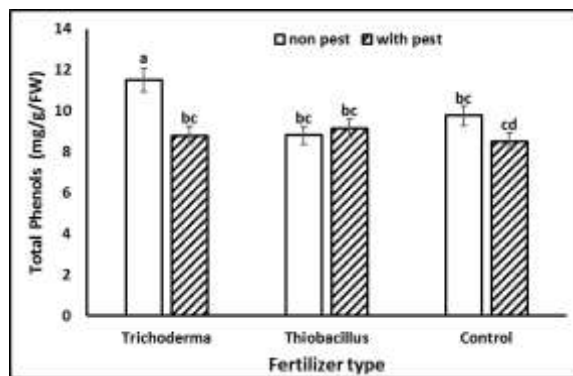


شکل ۸- اثر تیمارهای قارچ تریکودرما و باکتری‌های جنس تیوباسیلوس بر میزان پراکسید هیدروژن در گیاه گوجه فرنگی رقم فلات، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آماری و بررسی آزمون دانکن (۵ درصد) اختلافی ندارند.



شکل ۹- اثر تیمارهای قارچ تریکودرما و باکتری‌های جنس تیوباسیلوس بر میزان قند محلول در گیاه گوجه فرنگی رقم فلات، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آماری و بررسی آزمون دانکن (۵ درصد) اختلافی ندارند.

آنزیم پلی فنل اکسیداز: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تاثیر تیمار مواد بیولوژیک (قارچ و باکتری) بر میزان آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در گیاه تحت تیمارهای مختلف در گیاهان با تغذیه حشره و بدون آن (سالم) و هم چنین اثرات متقابل بین آن‌ها در سطح پنج درصد معنی‌دار بود

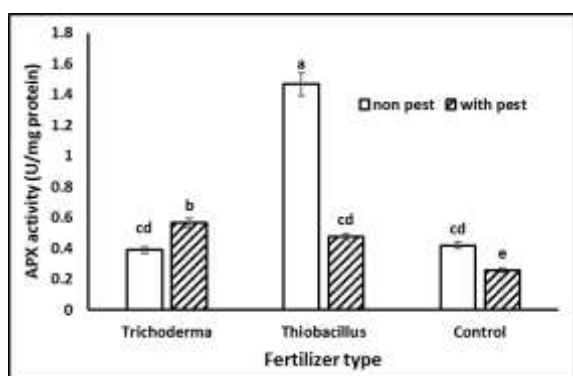


شکل ۷- اثر تیمارهای قارچ تریکودرما و باکتری‌های جنس تیوباسیلوس بر میزان ترکیبات فنل کل در گیاه گوجه فرنگی رقم فلات، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آماری و بررسی آزمون دانکن (۵ درصد) اختلافی ندارند.

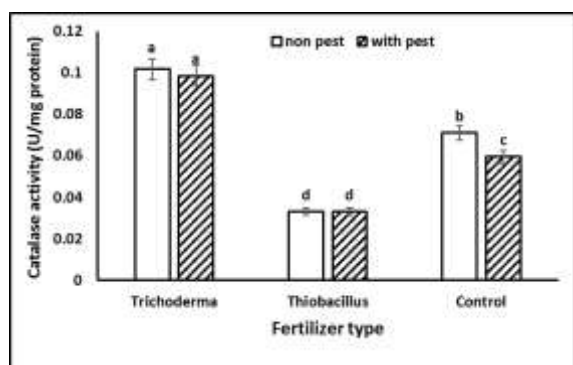
همانگونه که در شکل ۸ مشخص شده است میزان پراکسید هیدروژن در گیاهان سالم تحت تیمار باکتری‌های *Thiobacillus spp.* به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارهای آزمایشی هم در گیاهان سالم بدون آفت و هم گیاهان تحت تنش تغذیه لارو کرم میوه گوجه‌فرنگی است. همچنین گیاهان تیمار شده با قارچ تریکودرما زمانی که تحت تنش تغذیه لارو حشره آفت قرار گرفتند میزان تولید پراکسید هیدروژن در آن‌ها به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان بدون آفت تیمار شده با این قارچ بود. در بین گیاهان شاهد تفاوت معنی‌داری بین گیاهان سالم و آلوده به آفت تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۸).

قندهای محلول: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تاثیر تیمار مواد بیولوژیک (قارچ و باکتری) بر میزان قندهای محلول در گیاه تحت تیمارهای مختلف در گیاهان با تغذیه حشره و بدون آن (سالم) و هم چنین اثرات متقابل بین آن‌ها در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. همانگونه که در شکل ۹ مشخص شده است میزان قندهای محلول در گیاهان سالم تحت تیمار باکتری‌های *Thiobacillus spp.* قارچ *T. harzianum* T22 به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارهای آزمایشی هم در گیاهان سالم بدون آفت و هم گیاهان تحت تنش تغذیه لارو کرم میوه گوجه‌فرنگی

بدون آن (سالم) و هم چنین اثرات متقابل بین آن‌ها در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. میزان این‌آنزیم در گیاهان تحت تیمار قارچ (هر دو گیاهان سالم و تحت تنش آفت) به طور معنی‌داری بیش از سایر گیاهان (تیمار باکتری و شاهد) بود اما میزان آنزیم کاتالاز در گیاهان سالم تحت تیمار قارچ و باکتری بین گیاهان بدون آفت با گیاهان تحت تنش تغذیه لارو آفت کرم میوه گوجه‌فرنگی از این لحاظ مشاهده نشد (شکل ۱۲).

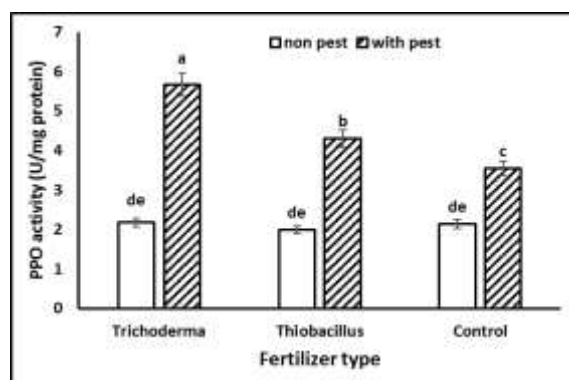


شکل ۱۱- اثر تیمارهای قارچ تریکودرما و باکتری‌های جنس تیوباسیلوس بر میزان فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز در گیاه گوجه‌فرنگی رقم فلات، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آماری و بررسی آزمون دانکن (۵ درصد) اختلافی ندارند.



شکل ۱۲- اثر تیمارهای قارچ تریکودرما و باکتری‌های جنس تیوباسیلوس بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه گوجه‌فرنگی رقم فلات، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آماری و بررسی آزمون دانکن (۵ درصد) اختلافی ندارند.

(شکل ۱۰). میزان آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در گیاهان آلوده به لارو آفت تحت تیمار قارچ *T.harzianum* T-22 به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارهای آزمایشی هم در گیاهان سالم بدون آفت و هم گیاهان تحت تنش تغذیه لارو کرم میوه گوجه‌فرنگی است. در بین گیاهان تیمار شده با باکتری و گیاهان شاهد تفاوت معنی‌داری بین گیاهان سالم و آلوده به آفت مشاهده نشد (شکل ۱۰).



شکل ۱۰- اثر تیمارهای قارچ تریکودرما و باکتری‌های جنس تیوباسیلوس بر میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در گیاه گوجه‌فرنگی رقم فلات، میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آماری و بررسی آزمون دانکن (۵ درصد) اختلافی ندارند.

آنزیم اسکوربات پراکسیداز: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تاثیر تیمار مواد بیولوژیک (قارچ و باکتری) بر میزان آنزیم اسکوربات پراکسیداز تیمارهای مختلف در گیاهان با تغذیه حشره و بدون آن (سالم) و هم چنین اثرات متقابل بین آن‌ها در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. میزان آنزیم اسکوربات پراکسیداز در گیاهان سالم تحت تیمار باکتری به طور معنی‌داری بیشتر از سایر گیاهان تیمار و شاهد بود (شکل ۱۱).

آنزیم کاتالاز: نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تاثیر تیمار مواد بیولوژیک (قارچ و باکتری) روی میزان آنزیم کاتالاز تیمارهای مختلف در گیاهان با تغذیه حشره و

بحث و نتیجه گیری

از نتایج ارزیابی و مقایسه گیاهان گوجه‌فرنگی تیمار شده با مواد بیولوژیک شامل قارچ تریکودرما و باکتری تیوباسیلوس مشخص شد که گیاهان سالم تیمار شده با قارچ *T. harzianum* T22 نسبت به گیاهان شاهد که هیچگونه تیمار قارچ و باکتری برای آن‌ها اعمال نشد، میزان ترکیبات فنلی کل، میزان قندهای محلول، کلروفیل کل، کارتنوئید و حجم ریشه بیشتری دارا بودند. نتایج در مورد گیاهان تیمار شده با مخلوط باکتری‌های جنس *Thiobacillus* نیز نشان داد که میزان تولید پراکسید هیدروژن، کلروفیل کل، کارتنوئید و حجم ریشه در گیاهان تیمار شده با باکتری به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان شاهد بود. از این نتایج اینگونه استنباط می‌شود که استفاده از قارچ تریکودرما و نیز باکتری‌های جنس تیوباسیلوس روی رشد رویشی اندام زیرزمینی گیاه که در جذب مواد غذایی از خاک نقش دارد، تاثیر کاملاً مثبتی داشته است. همچنین کاربرد این مواد بیولوژیک روی تحریک و تقویت سیستم دفاعی گیاه در تولید برخی مواد دفاعی مهم مثل ترکیبات فنلی و پراکسید هیدروژن نقش بارزی داشته است. در راستای بررسی و مرور فعالیت‌های انجام شده در این زمینه، بسیاری از محققان این باورند که به طور عمده جدایه‌های مختلف قارچ‌های جنس *Trichoderma spp.* با تولید مواد بیوشیمیایی باعث تولید تحریک رشد گیاهان می‌شوند و یا باعث کاهش اثرات ممانعت از رشد برخی ترکیبات، توکسین‌های زیستی و شیمیایی موجود در خاک و حتی تغییر در میزان عناصر محلول در خاک می‌شوند (۲۷ و ۳۷).

ترشح اسیدهای آلی مانند گلوکونیک اسید، اسید سیتریک و فوماریک اسید توسط گونه‌های تریکودرما باعث کاهش اسیدیته خاک و در نهایت افزایش حلالیت و جذب ریزمغذی‌های مهم مورد نیاز برای رشد گیاه مثل آهن، منیزیم و فسفات‌ها می‌شود (۴). همچنین باکتری‌های

محرک رشد ریزوسفری از جمله تیوباسیلوس‌ها با سازوکارهای مختلف مانند تسهیل جذب مواد مغذی به گیاه از طریق تثبیت نیتروژن، انحلال فسفات‌های غیر آلی و قابل جذب نمودن فسفر برای گیاه، جذب ریز مغذی‌هایی مانند آهن با ساخت سیدروفور و تعدیل سطح هورمون‌های گیاهی مانند افزایش تولید اکسین باعث بهبود رشد و تولید اتیلن از طریق فعالیت عملکرد گیاه در شرایط تنش می‌شوند. این باکتری‌ها همچنین نیاز به کودهای شیمیایی را جبران و فعالیت عوامل بیماری‌زای گیاهی را با ترشح سیانید هیدروژن متوقف کرده یا کاهش می‌دهند (۱۱).

مطالعه‌های مختلفی در زمینه بررسی تاثیر مواد بیولوژیک مختلف از جمله قارچ و باکتری استفاده شده در این تحقیق توسط نویسندگان مختلف انجام شده است. به طور نمونه در مطالعه‌ای محققین نشان دادند که برخی از جدایه‌های *T. harzianum* تنها در غلظت یک درصد در خاک باعث افزایش رشد اندام‌های هوایی و ریشه گیاه کاهو شدند (۲۴). در پژوهش دیگری گزارش شد که تیمار بذر گیاه بامیه با قارچ *T. harzianum* سبب افزایش درصد جوانه‌زنی بذر و شاخص جوانه‌زنی بذر شد (۲۴). همچنین در مطالعه‌ای دیگر افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی گوجه‌فرنگی تحت تاثیر قارچ *T. harzianum* گزارش شد (۲۱). در پژوهشی مشابه محققین نشان دادند که با استفاده تلفیقی از گوگرد و باکتری تیوباسیلوس روی دو رقم سویا میزان عملکرد، محتوی کلروفیل و جذب آهن و روی به طور چشمگیری بهبود یافت. علاوه بر گوگرد، سولفیدها، تیوسولفات و تتراتیونات نیز به سولفات اکسید می‌شوند (۸). همچنین در مطالعه‌ای دیگر محققین نشان دادند که سویه‌های *T. harzianum* 8 و *harzianum* 1103 در کنترل بیولوژیک بیماری‌های قارچی در گیاهان استفاده نمود (۱ و ۲).

در مقایسه شاخص‌های مختلف بین گیاهان تیمار شده تحت تنش تغذیه لارو کرم میوه گوجه‌فرنگی و گیاهان

سلول‌های گیاه می‌شوند (۱۳). در این پژوهش مشخص شد که استفاده از قارچ تریکودرما سبب افزایش معنی‌دار میزان آنزیم کاتالاز و قندهای محلول در گیاهان تیماری (بدون حضور آفت) نسبت به شاهد شده بود. دلیل این امر این است که گیاهان برای تعدیل میزان گونه‌های فعال اکسیژن و جلوگیری از تنش اکسایش، اقدام به ساخت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی اعم از آنزیمی مانند کاتالاز و غیر آنزیمی مانند ترکیبات فنلی می‌کنند (۱۳).

از مجموع نتایج این پژوهش مشخص شد که قارچ *Thiobacillus spp.* و *T.harzianum* T22 و باکتری‌های روی برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و رشدی گیاه گوجه‌فرنگی تاثیر مثبت داشته است و علاوه بر گسترش سطح فتوسنتزی و حجم ریشه سبب تقویت سیستم دفاعی گیاه هم با تولید بیشتر ترکیبات دفاعی مهم از جمله فنلی کل، میزان تولید پراکسید هیدروژن، میزان قندهای محلول بیشتری دارا بودند. در تمام تیمارهای آزمایشی (قارچ، باکتری و شاهد) میزان آنزیم‌های اکسیداسیون پلی‌فنل اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در زمان قرار گرفتن گیاهان تیمار شده با قارچ تریکودرما و باکتری تیوباسیلوس تحت تنش تغذیه آفت کرم میوه گوجه‌فرنگی مبین عکس‌العمل سیستم دفاعی گیاه در مقابل حمله گیاهخوار است. استفاده از عوامل و فراورده‌های بیولوژیک موثر غیر همزیست و همزیست گیاه که کمک شایانی به جذب بیشتر و بهتر مواد غذایی از بستر کشت به گیاهان نموده و سبب رشد بهتر گیاهان می‌شوند و از طرفی با تحریک و تقویت بیشتر سیستم دفاعی گیاه سبب ایجاد مقاومت القایی جهت مقابله با خسارت آفات و بیماری‌های گیاهی می‌شوند و در تقویت پایداری و حفاظت از محیط زیست دخیل هستند توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

این مقاله مربوط به مطالعات انجام شده طرح بیرونی شماره ۱۹/۹۹/۴۴۰۶ فیما بین سازمان نظام مهندسی کشاورزی و

سالم در همان تیمارها، نتایج نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار میزان کلروفیل، کارتنوئید، قندهای محلول و در گیاهان تیمار شده با قارچ و همچنین کاهش معنی‌دار قندهای محلول، طول و حجم ریشه گیاهان تیمار شده با باکتری تحت تنش آفت نسبت به گیاهان سالم بود. این نتایج بیانگر آن است که تغذیه آفت سبب کاهش میزان رشد رویشی و فتوسنتز گیاه شده است. علاوه بر این در نتایج این پژوهش مشخص شد که فعالیت آنزیم‌های اکسیداسیون دو آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در تمام تیمارهای (قارچ، باکتری و شاهد) تحت تنش تغذیه و خسارت لارو کرم میوه گوجه‌فرنگی به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان سالم در همان تیمارها بود. این نشان می‌دهد که گیاهان تحت تنش تغذیه لارو آفت در اثر آسیب دیدن بافت برگ گیاه و تحریک سیستم دفاعی به آن واکنش نشان داده‌اند و تولید آنزیم‌های مهم اکسیداسیونی از جمله آنزیم کاتالاز، پلی‌فنل اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در این گیاهان نسبت به گیاهان بدون آفت به طور معنی‌داری افزایش یافته است. در پاسخ به شرایط استرس زای زیستی مختلف، افزایش بیان پلی‌فنل اکسیداز با مقاومت گیاه بر علیه شرایط استرس زا در ارتباط است. سطح بالای فعالیت پلی‌فنل اکسیداز، سطح اکسیژن آزاد در دسترس را برای تولید ROS کاهش می‌دهد (۳۶). پلی‌فنل اکسیداز اکسید کننده فنل می‌باشد و در شرایط تنش، افزایش فعالیت آن به عنوان شاخصی برای سنجش میزان مقاومت گیاهان نسبت به تنش می‌باشد. تنش‌های زیستی باعث کاهش دسترسی گیاه به دی‌اکسید کربن، ممانعت از تثبیت کربن و کاهش پی‌در پی اکسیژن مولکولی شده که نتیجه آن افزایش بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن و صدمه به عملکرد کلروپلاست‌ها و در نهایت اختلال در فرآیند فتوسنتز می‌باشد (۳۴). همچنین آنزیم‌های اکسیدانی و ترکیبات فنلی با جمع‌آوری و احیای گونه‌های فعال اکسیژن از اکسیداسیون مولکول‌های زیستی حیاتی سلول جلوگیری کرده و مانع بروز تنش اکسایش و یا تخفیف اثرات آن در

مسئولین سازمان نظام مهندسی کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمان و همچنین ریاست پژوهشگاه و دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته اعلام می‌دارند.

منابع طبیعی استان کرمان با دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته و قرارداد داخلی شماره ۹۹/۱۹۷۲/ص/۷ می‌باشد که در پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی به ثبت رسیده است. نویسندگان مقاله مراتب تشکرو قدردانی خود را از

منابع

- ۱- سید اصلی، ن.، زمانی، م.، مطلبی، م. و حریفی، م. ج. ۱۳۸۳. مطالعه تولید آنزیم کیتیناز در قارچ تریکودرما. مجله زیست‌شناسی ایران، ۱۷: ۲۲۳-۲۳۷.
- ۲- کاظم‌زاده، س.، فرخی، ن.، امین‌زاده، س.، علوی، س. م.، سرپله، ا. و ممرآبادی، م. ۱۳۹۴. مجله پژوهش‌های سلولی و مولکولی (مجله زیست‌شناسی ایران)، ۲۸: ۱۰۷-۱۱۴.
- 3- Ahmadi, M., and Souri, M. K. 2018. Growth and mineral elements of coriander (*Coriander sativum* L.) plants under mild salinity with different salts. *Acta Physiologia Plantarum*, 40: 94-99
- 4- Benitez, T., Rincon, A.M., Limon, M.C. and Codon, A.C. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*. 7: 4. 249-260
- 5- Boughton AJ, Hoover K, and Felton G.W. 2017. Impact of chemical elicitor applications on greenhouse tomato plants and population growth of the green peach aphid, *Myzus persicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 120: 175-18.
- 6- Dhindsa, R.S., Plumb-Dhindsa, P. and Thrope, T.A. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid per oxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*. 32: 43-101.
- 7- Fahimi, A., Ashouri, A., Ahmadzadeh, M., Hoseini Naveh, V., Asgharzadeh, A. and Feizollah, M. 2014. Effect of PGPR on population growth parameters of cotton aphid. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 47: 1274-1285.
- 8- Falah-Hassani, K., Kosunen, E., Shiri, R., Jokela, J., Liinamo, A., and Rimpelä, A. 2009. Adolescent sexual behavior during periods of increase and decrease in the abortion rate. *Obstetrics and Gynecology*. 114: 79-86.
- 9- Fitt, G. P., Zalucki, M. P., and Twine, P. 1989. Temporal and spatial patterns in pheromone-trap catches of *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton-growing areas of Australia. *Bulletin of Entomological Research*. 79: 145-161.
- 10-Gams, W. and Meyer, W. 1998. What exactly is *Trichoderma harzianum*? *Mycologia*. 90: 5. 904-915.
- 11-Gouda, S., Kerry, R. G., Das, G., Paramithiotis S., Shin, H. S. Jayanta Kumar Patra. 2018. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiological Research*. 206: 131-140.
- 12-Han, H. S., Supanjani, K. and Lee, D. 2004. Effect of coinubation with phosphate and potassium solubilizing bacteria on mineral uptake and growth of pepper and cucumber. *Agronomy Journal*. 24: 169- 176.
- 13-Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., Fujita, M. and Fotopoulos, V. (2020) Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: Revisiting the crucial role of a universal defense regulator. *Antioxidants*. 9: 681-702.
- 14-Herman M. A. B., Nault B. A., and Smart C. D. 2008. Effects of plant growth-promoting rhizobacteria on bell pepper production and green peach aphid infestations in New York. *Crop Protection* 27 996-1002.
- 15-Herron G, Powis K, and Rophail J. 2000. Baseline studies and preliminary resistanc survey of Australian populations of the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover (Hom.: Aphididae), *Australian Journal of Entomology*. 39: 33- 38.
- 16-Kempel, A., Brandl, R., and Schädler, M. 2009. Symbiotic soil microorganisms as players in aboveground plant-herbivore interactions-the role of rhizobia. *Oikos*. 118: 634-640.
- 17-Kogan, M., and Paxton, J. 1983. Natural inducers of plant resistance to insects. In: Hedin P. A. (ed) *Plant resistance to insects*. American Chemical

- Society Symposium. American Chemical Society. 208: 153-171.
- 18-Kula, A. A., Hartnett, D. C., and Wilson, G. W. 2005. Effects of mycorrhizal symbiosis on tallgrass prairie plant-herbivore interactions. *Ecology Letters*. 8: 61-69.
- 19-Lichtenthal, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoid: pigment of photosynthetic biomembrane. " *Method in Enzymology* 148, pp. 350- 382.
- 20-Lumsden,R.D., Carter, J.P. and Whipps, J.M. 1990. Comparison of biomass and viable propagule measurements in the antagonism of *Trichoderma harzianum* against *Pythium ultimum*. *Soil Biology Biochemistry*. 20: 123-125. *Management*. 19: 24-9.
- 21-Mastouri, F., Bjorkman, K., Harman, G.H. 2010. Seed treated with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seed and seedlings. *Phytopathology*. 100: 1213-1221.
- 22-Mayer AM, and Harel E. 1979. Polyphenol oxidases in plants. *Phytochemistry*. 18: 193- 215.
- 23-Mirza, S., Bradley, P. J., Acharya, A., Stacey, M., and Jones, N. S. 2007. Sinonasal inverted papillomas: recurrence, and synchronous and metachronous malignancy. *The Journal of Laryngology and Otology*. 121:857-864.
- 24-Mokhtar, S. B., Preuveneers, D., Georgantas, N., Issarny, V., and Berbers, Y. 2008. Efficient semantic service discovery in pervasive computing environments with QoS and context support. *Journal of Systems and Software*. 81:785-808.
- 25-Naiji, M. and Sour, M. K. 2018. Nutritional value and mineral concentrations of sweet basil under organic compared to chemical fertilization, *Journal of Acta Science Poland Hortorum Cultus*, 17: 167- 175.
- 26-Nakano Y, Asada K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate -specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*. 22: 867 -880.
- 27-Ousley, M. A., Lynch, J. M. and Whipps, J. M. 1994. Potential of *Trichoderma* spp. as consistent plant growth stimulators. *Biology & Fertility of Soils*. 17: 85-90.
- 28-Rejeb, I. B., Pastor, V., and Mauch-Mani, B. 2014. Plant responses to simultaneous biotic and abiotic stress: molecular mechanisms. *Plants*. 3: 458-475.
- 29-Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 16: 144-158.
- 30-Somogyi M. 1952. Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry* 195:19-23.
- 31-Souri, M.K. and Neumann, G., 2018. Indications for passive rather than active release of natural nitrification inhibitors in *Brachiaria humidicola* root exudates. *Journal of Plant Nutrition*, 41: 477- 486.
- 32-Stout M.J, Thaler J.S, and Thomma B.P. 2006. Plant mediated interactions between pathogenic microorganisms and herbivorous arthropods. *Annual Review of Entomology* 51: 663- 689.
- 33-Sudbrink Jr, D. L., and Grant, J. F. 1995. Wild host plants of *Helicoverpa zea* and *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) in eastern Tennessee. *Environmental Entomology*. 24: 1080-1085.
- 34-Thipyapong P, Hunt M.D, and Steffens J.C. 2004. Antisense downregulation of polyphenol oxidase results in enhanced disease susceptibility. *Planta*. 220: 105-117.
- 35-Valenzuela-Soto, J. H., Estrada-Hernández, M. G., Ibarra-Laclette, E., & Délano-Frier, J. P. 2010. Inoculation of tomato plants (*Solanum lycopersicum*) with growth-promoting *Bacillus subtilis* retards whitefly *Bemisia tabaci* development. *Planta* 231: 397-410.
- 36-Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*. 151: 59-66.
- 37-Vinale, F., D., Ambrosio, G., Abadi, K., Scala, F., Marra, R., Turra, D., Woo, S.L. and Lorito, M. 2004. Application of *Trichoderma harzianum* (T22) and *Trichoderma atroviride* (P1) as plant growth promoters and their compatibility with copper oxychloride. *Journal of Zhejiang University Science*. 30: 2-8.
- 38-Vitti A, La Monaca E, Sofu A, Scopa A, Cuyper A, Nuzzaci M. 2015. Beneficial effects of *Trichoderma harzianum* T-22 in tomato seedlings infected by Cucumber mosaic virus (CMV). *Bio Control*. 60: 135-147.
- 39-Zhi-Hui, Y., Stoven, K., Haneklaus, S., Singh, B.R., and E. Schnug. 2010. Elemental sulfur oxidation by *Thiobacillus* spp. and aerobic heterotrophic sulfur-oxidizing bacteria. *Pedosphere*. 20: 71-79.

Evaluation of effect of *Trichoderma harzianum* strain T22 and *Thiobacillus* spp. on some physiological, biochemical and growth indices of tomato, *Lycopersicon esculentum* under biotic stress of tomato fruit borer, *Helicoverpa armigera*

Badakhshan N.¹, Mansouri S.M.^{1*}, Mozafari H.² and Mehrparvar M.¹

¹ Dept. of Biodiversity, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, graduate University of Advanced Technology, Kerman, I.R. of Iran.

² Dept. of Ecology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, graduate University of Advanced Technology, Kerman, I.R. of Iran.

Abstract

Beneficial microbes, such as fungi and bacteria, can improve plant fitness in different ways by increasing nutrient uptake and production of secondary metabolites, oxidation enzymes, volatile organic compounds and growth hormones. These are used to strengthen the plant's defense system. In this study, the effect of *Trichoderma harzianum* strain T22 and a complex of bacterial species of the genus *Thiobacillus* on some biochemical and growth indices of tomato plants under biological stress of tomato fruit borer, *Helicoverpa armigera*, were studied under greenhouse conditions. The results show that treated plants with *T. harzianum* had clearly higher total phenolic compounds, soluble sugars, total chlorophyll, carotenoid and root mass in comparison with the control plants. Treated plants with *Thiobacillus* spp. also showed more production of hydrogen peroxide, total chlorophyll, carotenoid and root mass than controls. In addition, plants under the biotic stress of pest larvae have reacted strongly and produced oxidation enzymes such as polyphenol oxidase and ascorbate peroxidase which was significantly increased compared to plants without pest stress.

Key words: Biological products, *Helicoverpa armigera*, oxidation enzymes, H₂O₂, root mass.