تحقیقات آفات‌گیاهی
۱۵- ۱ :(۲) ۱۴- ۱۴۰۳
Open access
doi: 10.22124/iprj.2024.27419.1576
pISSN:2322-2409
eISSN: 2538-6123

علمی پژوهشی

تاثیر جدایه‌های قارچ *Trichoderma* spp. و باکتری *Bacillus subtilis* در فاکتورهای رشدی گوجه‌فرنگی و القا مقاومت به سفیدبالک گلخانه، *Trialeurodes vaporariorum* (Hem.: Aleyrodidae)

زهرا نعمتی[۱]، یونس کریمپور[۲]*، شهرام فرخی[۳] و شهرام نعیمی[۴]

۱ و ۲- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، ۳ و ۴ - موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

1. 0009-0009-0372-4294, 2. 0000-0003-2468-8367, 3. 0000-0002-3056-0610, 4. 0000-0001-7508-3056

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۵/۱۰)

چکیده

یکی از روش‌های موثر برای کاهش خسارت آفات، القای مقاومت در گیاهان است. در این مطالعه تاثیر القای مقاومت با استفاده از جدایه‌های بومی قارچ *Trichoderma* spp. و یک نمونه تجاری آن (Trichorun)، جدایه‌های بومی باکتری *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) و یک نمونه تجاری آن (Serenade)، همراه با ترکیبات شیمیایی سالیسیلیک‌اسید و هیومیک‌اسید بر ترجیح میزبانی و تخم‌ریزی سفیدبالک گلخانه *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) و همچنین فاکتورهای رشدی گیاه بررسی شد. چهار آزمایش برای ارزیابی تاثیر این تیمارها روی فاکتورهای رشدی گوجه‌فرنگی رقم Vadaro 1012، سطح فنل کل، ترجیح میزبانی و تخم‌ریزی سفیدبالک در شرایط دمایی ۲±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت ۶۰-۷۰ درصد و دوره نوری ۸ :۱۶ ساعت روشنایی به تاریکی انجام شد. نتایج نشان داد تیمار ریشه گیاهان با جدایه بومی (Rifai) *Trichoderma harzianum* و تیمار ترکیب فرآورده‌های Trichorun با Serenade بهترین عملکرد را در رشد گیاه با افزایش معنی‌دار در حجم ریشه، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی گوجه‌فرنگی نسبت به شاهد دارند. در مقایسه با شاهد، تیمار Serenade بهترین نتیجه را در سنجش فنل کل، ترجیح میزبانی و تخم‌ریزی سفیدبالک گلخانه با کاهش معنی‌دار میانگین تعداد حشرات جذب‌شده به پشت برگ، میزان تخم‌گذاری در آزمون انتخابی و حشرات بالغ ظاهر شده نسل F1 در آزمون غیر انتخابی داشت. یافته‌های این پژوهش نشان داد که تلقیح ریشه با جدایه‌های بومی قارچ *T. harzianum* و باکتری *B. subtilis* سبب افزایش فاکتورهای رشدی گوجه‌فرنگی، القای مقاومت نسبت به سفیدبالک گلخانه و کاهش ترجیح میزبانی و تخم‌ریزی سفید بالک شد.

واژه‌های کلیدی: آنتاگونیست، القای مقاومت، ترجیح میزبانی، سفیدبالک گلخانه

* نویسنده مسئول: y.karimpour@urmia.ac.ir

CC BY

مقدمه

سفیدبالک گلخانه *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) یکی از آفات رایج در گلخانه‌های تولید محصولات زینتی و سبزیجات در سراسر جهان است که تاثیر منفی بر فیزیولوژی، بیوشیمی، آناتومی و رشد گیاهان آلوده دارد. این حشرات با تغذیه از شیره گیاهی موجب تخلیه ذخیره مواد غذایی در گیاهان شده و ضمن کاهش تولید اولیه و داشتن اثرات سمی روی گیاهان به‌عنوان ناقل ویروس‌های مهم گیاهی عمل می‌کنند. این آفت مکنده با ترشح عسلک باعث رشد کپک سیاه یا دوده روی برگ‌های آغشته به عسلک شده و مانع از رسیدن نور خورشید به آنها می‌شود و به این ترتیب موجب آسیب ثانویه به گیاهان آلوده می‌شود (Menjivar *et al*., 2012; van Lenteren *et al*., 1992). استفاده مکرر از حشره‌کش‌های شیمیایی علیه سفیدبالک دارای دو محدودیت عمده است: ۱. ایجاد نژادهای مقاوم در برابر حشره‌کش‌ها، ۲. آلودگی محیط زیست (van Lenteren, 2000). این محدودیت‌ها موجب توسعه روش‌های جایگزین برای کنترل این حشرات شده است (Menjivar *et al*., 2012). مقاومت القایی به‌عنوان یک روش کنترل غیرشیمیایی، با هدف بالا بردن مقاومت گیاه به‌وسیله دامنه وسیعی از موجودات ریز (باکتری‌ها، قارچ‌های بیمارگر، مایکوریزا و غیره) و ترکیبات شیمیایی نظیر سالیسیلیک‌اسید (Salisilic acide) و جاسمونیک‌اسید می‌تواند یک روش مطلوب در حفاظت گیاه و کنترل جمعیت آفات باشد (Aldaghi *et al*., 2021). سویه‌های مختلف قارچ تریکودرما با تاثیر مستقیم روی گیاهان باعث افزایش رشد، جذب بهتر مواد غذایی، افزایش سرعت جوانه‌زنی و تقویت سیستم دفاعی گیاهان در برابر عوامل تنش‌زای زنده و غیرزنده می‌باشند. مانند بسیاری از میکروارگانیسم‌های سودمند، بعضی از سویه‌های تریکودرما می‌توانند مقاومت سیستمیک اکتسابی یا مقاومت سیستمیک القایی (Induced systemic resistance) را در گیاهان فعال کنند (Coppola *et al*., 2019; McLean *et al*., 2012). سویه‌های مختلف باکتری‌های جنس *Bacillus* به‌عنوان ریزوباکترهای محرک رشد گیاه (PGPR) (Plant growth-promoting rhizobacteria) شناخته می‌شوند (Blake *et al*., 2021). باکتری‌های PGPR برهمکنش‌های قابل‌توجهی با ریشه گیاه نشان می‌دهند و اثرات مثبت مستقیم و غیرمستقیم روی رشد گیاه دارند و موجب کاهش تنش‌های مربوط به عوامل زنده و غیرزنده می‌شوند (Hashem *et al*., 2019; Kumar *et al*., 2024).

SAیک ترکیب فنلی است که در تنظیم رشدونمو گیاه و همچنین پاسخ دفاعی گیاه نقش کلیدی دارد. کاربرد بیرونی SA فرآیندهای فیزیولوژیکی مهم گیاه را تنظیم می‌کند که موجب محافظت از گیاهان در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی می‌شود (Liorens *et al*., 2017). هیومیک‌اسید (Humic acide) یک ترکیب طبیعی است و از هوموس خاک استخراج می‌شود و در گیاه موجب افزایش جذب مواد مغذی، حفظ نفوذپذیری غشا، افزایش متابولیسم میکروارگانیسم‌ها، بهبود وضعیت فیزیکی خاک و رشد ریشه و اندام‌های هوایی گیاه می‌شود (Kafi *et al*., 2009). مقاومت‌های اکتسابی و القایی، روی تغذیه، رشد و زنده‌مانی حشرات آفت اثر نامطلوب باقی می‌گذارد (Wu & Baldwin, 2010). به‌طور مثال، در یک بررسی تلقیح قارچ‌های اندوفیت *Fusarium oxysporum* (Synder & Hansen) سویه 162، *Trichoderma atroviridae* (Karst) سویه MT-20 و S-2 در ریشه بوته گوجه‌فرنگی تعداد حشرات کامل سفیدبالک گلخانه را در هر گیاه کاهش داد (Menjivar *et al*., 2012). در بررسی دیگر تاثیر تیمارهای SA، BABA (Beta aminobutyric acid) و قارچ *Trichoderma* روی ریشه گیاه گوجه‌فرنگی در حضور عسلک پنبه، *Bemisia tabaci* (Gennadius) به‌طور قابل توجهی رشدونمو این حشره را طولانی، نرخ مرگ‌ومیر را افزایش و ترجیح تخم‌ریزی *B. tabaci* را نیز کاهش داد که نشان‌دهنده افزایش مقاومت در گیاهان گوجه‌فرنگی در این تیمارها بوده است (Jafarbeigi *et al*., 2020). در پژوهشی تلقیح ریشه گیاه گوجه‌فرنگی با سویه BEB-DN باکتری *B. subtilis* موجب افزایش رشد گیاه و ایجاد پاسخ مقاومت سیستمیک القایی طولانی مدت در برابر سفیدبالک *B. tabaci* شد که در گیاهان تلقیح‌شده موجب

کاهش قابل‌توجه تعداد شفیره در حال تبدیل به حشره بالغ در مقایسه با گیاهان شاهد شد (Valenzuela- Soto *et al*., 2010). نظر به اهمیت اقتصادی گوجه‌فرنگی در ایران و کل جهان به‌ویژه از جنبه صادرات فرآورده‌های آن (Bagheri *et al*., 2012) و با توجه به خسارت اقتصادی سفیدبالک گلخانه که با وجود کاربرد روش‌های مختلف کنترل به تولید این محصول وارد می‌کند، ارائه راهکار مکمل یا جایگزین برای کنترل آفت مذکور ضرورت دارد. بنابراین، این پژوهش به‌منظور بررسی قابلیت آنتاگونیست‌های بومی و تجاری قارچ *Trichoderma* و باکتری *B. subtilis* در القای واکنش دفاعی گیاه گوجه‌فرنگی در برابر سفیدبالک گلخانه انجام شد.

مواد و روش‌ها

پرورش گیاه گوجه‌فرنگی

برای ضدعفونی سطحی و کاشت بذرهای گوجه‌فرنگی (رقم Vadaro 1012) از روش پورتقی و همکاران (Pourtaghi *et al*., 2020) استفاده شد. پس از سه هفته بوته‌های گوجه‌فرنگی در بستر کشت عاری از آلودگی با ترکیب ۴۵٪ کوکوپیت، ۲۰٪ پرلیت، ۲۰٪ خاک برگ و ۱۵٪ پیت‌ماس به گلدان‌های پلاستیکی به‌قطر ۱۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر منتقل شدند. سپس به‌مدت دو هفته تا زمان انجام آزمایش‌ها و وقتی که چهار تا شش برگی شوند در گلخانه با دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰±۶۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند.

ایجاد کلنی سفیدبالک گلخانه *T. vaporariorum*

حشرات کامل *T. vaporariorum* از گلخانه پرورش ژربرا، *Gerbera aurantiaca* (Daisy) در پاکدشت با استفاده از آسپیراتور جمع‌آوری و روی بوته‌های توتون و گوجه‌فرنگی هشت برگی عاری از هر گونه آلودگی در اتاقک رشد در دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۷۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی پرورش داده شدند. برای حفظ کلنی و جلوگیری از آلوده شدن آن به آفات و بیماری‌ها و عوامل ناخواسته، هر دو هفته یکبار بوته‌های جدید به کلنی اضافه و بوته‌های ضعیف و مسن حذف شدند. در همه آزمایش‌ها از سفیدبالک‌های بالغ هم‌سن استفاده شد. برای هم‌سن کردن سفیدبالک‌ها، برگ آلوده به شفیره جدا و داخل یک ظرف برای ۲۴ ساعت نگهداری شدند. سپس سفیدبالک‌هایی با طول عمر کمتر از ۲۴ ساعت در آزمایش‌ها استفاده شدند (Farrokhi, 2016).

تهیه عوامل آنتاگونیست و ترکیب‌های شیمیایی (SA و HA)

در این بررسی یک جدایه (T22) مربوط به فرآورده تجاری تریکوران (Trichorun) شرکت Biorun و سه جدایه بومی قارچ تریکودرما (از جدایه‌های *Trichoderma harzianum* (Rifai) و *Trichoderma longibrachiatum* (Clade)) که در آزمایشگاه میکروارگانیسم‌های مفید بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور نگهداری می‌شدند، استفاده شد. جدایه‌های داخلی ابتدا در ظروف پتری روی محیط PDA کشت داده شده و تا مرحله رشد کامل و اسپورزایی در انکوباتور ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. به‌منظور بازیابی قدرت اولیه قارچ، سویه‌ها پس از رشد در محیط کشت PDA، از هر سویه چند قطعه جدا کرده و به کیسه‌های حاوی بذر غلات مرطوب و استریل‌شده منتقل و تا سه هفته داخل انکوباتور ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. پس از رشد کامل و اسپورزایی قارچ روی بذر غلات، ضمن تعیین میزان زنده‌مانی اسپورها در محیط کشت PDA، سوسپانسیون 10^7 اسپور در میلی‌لیتر هر یک از جدایه‌های بومی قارچ با استفاده از آب مقطر استریل و توئین (Tween) ۲۰ (به نسبت ۰/۱ درصد) تهیه شد.

در مورد باکتری *B. subtilis* یک جدایه خارجی (QST 713) مربوط به فرآورده تجاری سرناد (Serenade) شرکت بایر (Bayer) و ۵ جدایه بومی از آزمایشگاه میکروارگانیسم‌های مفید بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور تهیه شد. جدایه‌های بومی باکتری ابتدا در محیط کشت جامد نوترینت آگار (Nutrient agar) و سپس در محیط کشت مایع نوترینت براث (Nutrient Broth) در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و

اسیدیته ۰/۲ ± ۶/۸ با استفاده از شیکرهای آزمایشگاهی با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه به‌مدت سه روز کشت شدند. مراحل تهیه رقت‌های متوالی و شمارش سلول‌های زنده در محیط کشت NA برای سویه‌های باکتری انجام شد. سپس سوسپانسیون هر یک از جدایه‌های بومی باکتری با غلظت 10^8 با استفاده از آب مقطر استریل و توین ۲۰ (با غلظت ۰/۱ درصد) تهیه شد.

برای تهیه محلول یک میلی‌مولار SA، ابتدا با حل کردن SA در اتانول ۹۶٪ محلول 10^3 به‌دست آمد. سپس غلظت یک میلی‌مولار SA شامل ۰/۱ درصد توین ۲۰ با استفاده از آب دیونیزه به‌دست آمد. محلول آب مقطر/ اتانول/ سورفکتانت (توین ۲۰)، برای بوته‌های شاهد استفاده شد (Ghamari *et al.*, 2020). همچنین محلول سه در هزار هیومیک اسید (HA: Green Pick®) طبق توصیه شرکت سازنده تهیه شد.

نحوه تیمار بوته‌های گوجه فرنگی

بوته‌های گوجه‌فرنگی چهار تا شش برگی برای تلقیح استفاده شدند. برای تلقیح ریزوسفر، ۱۰ میلی‌لیتر از هر کدام از تیمارها شامل سوسپانسیون قارچ تریکودرما با غلظت 10^7 کنیدی در میلی‌لیتر، سوسپانسیون باکتری *B. subtilis* با غلظت 10^8 سلول باکتری در میلی‌لیتر، SA با غلظت یک میلی‌مولار و هیومیک‌اسید با غلظت سه در هزار، به‌ازای هر گیاه به خاک اطراف طوقه و ریشه گوجه‌فرنگی افزوده شد. برای تیمار شاهد نیز ۱۰ میلی‌لیتر محلول آب مقطر و سورفکتانت (توین ۲۰)، به خاک اطراف ریشه گوجه‌فرنگی اضافه شد. تلقیح ریشه در جداول با حرف اختصاری (Root) R مشخص شده است. برای محلول‌پاشی روی برگ‌های گوجه‌فرنگی، در گلدان‌های جدید و بدون تیمار خاک ۱۰ میلی‌لیتر از هر کدام از تیمارهای بیان‌شده با استفاده از محلول‌پاش دستی روی بوته‌های گوجه‌فرنگی محلول‌پاشی شدند. برای جلوگیری از ریزش سوسپانسیون کنیدی و ترکیب‌های شیمیایی روی خاک پای گلدان، روی هر گلدان با ورق نازک آلومینیومی پوشانده شدند. برای تیمار شاهد نیز ۱۰ میلی‌لیتر محلول آب مقطر و سورفکتانت (توین ۲۰)، روی برگ‌های بوته‌های گوجه‌فرنگی محلول‌پاشی شد. محلول‌پاشی اندام هوایی در جداول با حرف اختصاری L (Leaf) مشخص شده است. برای آزمون‌های ترکیبی فرآورده‌های تجاری تریکوران و سرناد به‌صورت‌های ترکیبی استفاده شدند: ۱) افزودن ۱۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون از هر کدام از عوامل تریکوران و سرناد به‌صورت جداگانه با غلظت بیان-شده به خاک پای ریشه‌های یک گروه از گیاهان به‌صورت یک تیمار، ۲) محلول‌پاشی ۱۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون از هر کدام از عوامل تریکوران و سرناد به‌صورت جداگانه با غلظت بیان‌شده به اندام‌های هوایی یک گروه از گیاهان به‌صورت یک تیمار، ۳) افزودن ترکیبی سوسپانسیون فرآورده تریکوران به ریشه و محلول‌پاشی فرآورده سرناد به اندام هوایی یک گروه از گیاهان به‌صورت یک تیمار و ۴) افزودن ترکیبی سوسپانسیون فرآورده سرناد به ریشه و محلول‌پاشی فرآوررده تریکوران به اندام هوایی یک گروه از گیاهان به‌صورت یک تیمار. همه آزمایش‌های مربوط به بررسی تاثیر میکروارگانیسم‌های خاکزی و ترکیبات شیمیایی مورد نظر بر گیاه و آفت در شرایط اتاق حرارت ثابت با دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰±۷۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد.

شاخص‌های تاثیر عوامل آنتاگونیست ریزوسفر و مواد شیمیایی بر رشد گیاه

حجم ریشه، وزن تر و خشک ریشه و اندام‌های هوایی ۶ هفته پس از تیمار بوته‌های گوجه‌فرنگی با سوسپانسیون عوامل مختلف محاسبه شد. حجم ریشه به روش غوطه‌ور کردن ریشه شسته‌شده در آب مقطر با حجم معین در استوانه مدرج دقیق و اندازه‌گیری حجم اضافه شده در استوانه مدرج به‌دست آمد. برای تعیین وزن خشک، گیاهان با آب مقطر دوبار تقطیر شده شسته شدند. ریشه‌ها و شاخه‌ها جدا شده و به‌مدت ۷۲ ساعت در آون ۷۰ درجه سلسیوس خشک شده و با ترازوی حساس توزین شدند. در این مرحله از آزمایش‌ها در مجموع ۱۵۰ بوته گوجه‌فرنگی چهار تا شش برگی به‌صورت ۳۰ تیمار در پنج تکرار مورد آزمایش قرار گرفتند.

سنجش فنل کل

برای سنجش میزان فنل، گیاهان چهار تا شش برگی انتخاب شده و سه روز پس از تلقیح، از برگ آنها

نمونه‌برداری صورت گرفت. سنجش میزان فنل کل به‌روش (Ainsworth & Gillespie, 2007) انجام شد. به منظور همگن‌سازی بافت برگ از متانول ۹۵ درصد استفاده شد. عصاره‌گیری در نیتروژن مایع انجام و محلول به‌دست آمده به‌مدت ۴۸ ساعت در تاریکی نگهداری شد. پس از سانتریفیوژ کردن آن به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس با ۱۴ هزار دور در دقیقه، مایع رویی با معرف فولین سیوکالتئو (Folin ciocalteu) ۱۰ درصد وکربنات سدیم هفت درصد مخلوط شد. تیمار شاهد، تنها متانول ۹۵ درصد به‌همراه کربنات سدیم و معرف فولین سیوکالتئو بود. میزان جذب در دستگاه اسپکتروفتومتر (Perkin Elmer-Lambda 25)، در طول موج ۷۶۵ نانومتر خوانده شد. مقدار فنل کل از روی منحنی استاندارد برحسب گالیک اسید به‌صورت میلی‌گرم در هر گرم پودر خشک گیاه محاسبه و ثبت شد. در این مرحله از آزمایش‌ها در مجموع ۳۵ بوته گوجه‌فرنگی چهار تا شش برگی به‌صورت هفت تیمار در پنج تکرار مورد آزمایش قرار گرفتند.

ترجیح میزبانی

۱. آزمون انتخابی

در این آزمایش، ترجیح میزبانی آفت با حق انتخاب بین میزبان سالم و آلوده با شش تیمار و یک شاهد در شش تکرار بررسی شد. تعداد ۴۲ عدد گلدان حاوی بوته‌های گوجه‌فرنگی شش برگی هم‌اندازه پس از سه روز از تلقیح ریشه توسط مواد بیان‌شده، در اطراف یک دایره داخل یک قفس (طول، عرض و ارتفاع یک متر) پوشیده‌شده با پارچه ارگانزا قرار داده شدند (Aldaghi *et al*., 2021). سپس ۷۰ جفت حشره بالغ نر و ماده هم‌سن یک‌روزه سفیدبالک گلخانه، *T. vaporariorum* از جمعیت پرورش داده‌شده، جمع‌آوری و در قسمت مرکزی قفس رهاسازی شدند. پس از سه روز تعداد حشرات بالغ پشت برگ‌های هر گیاه شمارش شده و سپس حذف شدند. همچنین مجموع تعداد تخم‌های گذاشته شده روی برگ‌های هر گیاه زیر استریومیکروسکوپ شمارش شدند. در این مرحله از آزمایش‌ها در مجموع ۴۲ عدد بوته گوجه‌فرنگی چهار تا شش برگی به‌صورت هفت تیمار در شش تکرار مورد آزمایش قرار گرفتند.

۲. آزمون غیرانتخابی

در این آزمایش، آفت به‌طور مستقیم روی بوته‌های تلقیح شده از ریشه و بوته های شاهد منتقل شده و تعداد نتاج آن بررسی شد. تعداد ۱۴ عدد گیاه گوجه‌فرنگی شش برگی هم اندازه با هفت تیمار (یک شاهد و شش تیمار) در نظر گرفته شدند. دو بوته برای هر تیمار و روی هر بوته سخ عدد قفس برگی نصب شد (در مجموع شش تکرار برای هر تیمار). در هر قفس پنج جفت حشره کامل سفیدبالک گلخانه، *T. vaporariorum* (یک‌روزه) رهاسازی شده و به آنها اجازه تغذیه، جفت‌گیری و تخم‌ریزی داده شد. در مجموع برای کل این آزمون ۴۲۰ عدد حشره هم‌سن استفاده شد. پس از یک هفته حشرات کامل زنده‌مانده در هر قفس حذف شده و با بررسی روزانه هر یک از برگ‌های گیاهان تا زمان خروج آخرین حشره بالغ، میزان خروج حشرات کامل سفیدبالک ثبت شد. در این مرحله از آزمایش‌ها در مجموع ۱۴ عدد بوته گوجه‌فرنگی چهار تا شش برگی (دو بوته برای هر تیمار) با استفاده از قفس‌های برگی به‌صورت هفت تیمار در شش تکرار، مورد آزمایش قرار گرفتند.

تجزیه آماری

آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. داده‌های ثبت‌شده با نرم افزار SAS (Proc GLM; SAS 9.4, 2020) تجزیه و تحلیل و تفاوت‌های معنی‌دار بین گروه‌های تیمارها با استفاده از آزمون توکی محاسبه شدند.

نتایج

تاثیر عوامل آنتاگونیست ریزوسفر و مواد شیمیایی بر رشد گیاه

تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست‌آمده از این آزمون نشان داد که جدایه‌های قارچ تریکودرما، باکتری *B. subtilis* و مواد شیمیایی روی گیاه گوجه‌فرنگی اثرات رشدی متفاوتی داشتند (جدول ۱). براساس نتایج تجزیه واریانس اثرات جدایه‌ها و مواد شیمیایی بر حجم ریشه ($F_{29, 120}$=41.97, P<0.001)، وزن تر ریشه ($F_{29, 120}$=19.82, P<0.001)،

و وزن خشک ریشه ($F_{29, 120}$=14.17, P<0.001) و وزن تر اندام هوایی ($F_{29, 120}$=30.08, P<0.001) و وزن خشک اندام هوایی ($F_{29, 120}$=5.44, P<0.001)، در سطح احتمال یک درصد نسبت به شاهد معنی‌دار بودند (جدول ۱). در همه تیمارها تلقیح ریشه (R) نسبت به محلول‌پاشی اندام هوایی (L)، تاثیر بیشتری در افزایش پارامترهای رشدی گوجه‌فرنگی داشت. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمار ترکیبی فرآورده تجاری Trichorun با Serenade (Ser R+ Tricho R) و تیمار بومی *T. harzianum* 2 R، که به‌صورت تلقیح ریشه استفاده شدند، بیشترین عملکرد را در افزایش پارامترهای رشدی گیاه گوجه‌فرنگی داشتند و کمترین عملکرد مربوط به تیمار شاهد بود. این دو تیمار به ترتیب افزایش معنی‌دار ۶۱/۶۸ و ۶۷/۲۸ درصد در حجم ریشه، ۷۴/۳۷ و ۶۱/۱۷ درصد وزن تر ریشه، ۴۸/۸۲ و ۴۰/۵۱ درصد وزن خشک ریشه، ۲۴/۰۸ و ۳۳/۲۶ درصد وزن تر اندام هوایی، و ۳۹/۷۳ و ۳۱/۱۵ درصد وزن خشک اندام هوایی گیاه گوجه‌فرنگی نسبت به شاهد نشان دادند. بر اساس نتایج حاصل از این مرحله، شش تیمار به صورت تلقیح ریشه برای مراحل بعد انتخاب شدند: تیمار ترکیبی Serenade R+ Trichorun R، Trichorun R، *T. harzianum* 2 R، Serenade R، *B. subtilis* 1 R و SA R (سالیسیلیک‌اسید از راه تزریق به خاک اطراف ریشه).

سنجش فنل کل

نتایج نشان داد سه روز پس از تلقیح، بین تیمارها از نظر غلظت فنل در بافت برگی گیاه، تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد وجود داشت. بالاترین میزان فنل کل به ترتیب در تیمارهای Serenade R، تیمار ترکیبی Serenade R+Trichorun R و *T. harzianum* 2 R و پایین‌ترین میزان در تیمار شاهد ثبت شد ($F_{6, 28}$=180.70, P<0.001)(جدول ۲).

ترجیح میزبانی

۱. آزمون انتخابی

به دلیل حق انتخاب سفیدبالک در این آزمایش، کاهش معنی‌داری در افراد بالغ جذب‌شده به گیاهان ($F_{6, 35}$=173.10, P<0.001) و تعداد تخم‌ریزی آنها ($F_{6, 35}$=202.59, P<0.001) در گیاهان تیمار شده نسبت به شاهد مشاهده شد. به‌ترتیب تیمار فرآورده تجاری Serenade R، تیمار ترکیبی Serenade R+Trichorun R و تیمار *T. harzianum* 2 R کمترین میزان جذب حشره بالغ و تخم‌ریزی و تیمار شاهد بیشترین میزان را داشت (جدول ۳).

۲. آزمون غیرانتخابی

در این آزمون نیز کاهش معنی‌داری در میانگین نتاج تولید شده (حشرات بالغ ظاهر شده، نسل F1) در گیاهان تیمار شده نسبت به شاهد مشاهده شد. به‌ترتیب تیمار فرآورده تجاری Serenade R، تیمار ترکیبی Serenade R+Trichorun R و تیمار *T. harzianum* 2 R کمترین تعداد نتاج تولید شده و تیمار شاهد بیشترین تعداد را داشتند ($F_{6, 35}$=119.39, P<0.001)(جدول ۴).

جدول ۱- میانگین (±خطای معیار) شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی پس از تلقیح با جدایه‌های مختلف *Trichoderma* spp.، *Bacillus subtilis*، و کاربرد سالیسیلیک‌اسید، هیومیک‌اسید و تیمارهای ترکیبی (n=5)

Table 1. Mean (±SE) of growth parameters of tomato after inoculation with different strains of *Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis*, and application of Salicylic acid, Humic acid, and combined treatments (n=5)

Treatment	Root volume (ml)	Root fresh weight (gr)	Root dry weight (gr)	Aerial fresh weight (gr)	Aerial dry weight (gr)
Control R	3.567±0.29 l	3.160±0.19 j	0.553±0.050 i	25.013±1.098 ij	2.610±0.13 f
Control L	3.583±0.31 l	3.243±0.24 j	0.570±0.053 i	24.410±1.07 j	2.643±0.26 ef
B. subtilis 1 R	5.150±0.34 cde	4.617±0.35 cde	0.710±0.036 cde	28.363±1.92 de	3.213±0.18 bc
B. subtilis 1 L	4.000±0.40 ijk	3.863±0.10 fg	0.587±0.029 ghi	25.460±2.22 hij	2.993±0.24 cde
B. subtilis 2 R	4.900±0.30 def	4.380±0.16 de	0.667±0.025 def	27.350±1.95 ef	3.017±0.14 cd
B. subtilis 2 L	3.733±0.46 kl	3.337±0.23 hij	0.563±0.012 i	25.473±2.05 hij	2.817±0.26 def
B. subtilis 3 R	5.000±0.32 def	4.140±0.13 ef	0.640±0.036 e-h	26.600±1.65 fgh	3.013±0.16 cd
B. subtilis 3 L	3.850±0.29 jkl	3.347±0.28 hij	0.567±0.037 i	24.707±1.43 j	2.793±0.29 def
B. subtilis 4 R	5.150±0.36 cde	4.510±0.23 de	0.670±0.014 de	26.623±1.93 fgh	3.000±0.18 cd
B. subtilis 4 L	3.750±0.39 kl	3.300±0.27 ij	0.567±0.026 i	25.050±1.67 ij	2.820±0.23 def
B. subtilis 5 R	5.200±0.55 cd	4.150±0.11 ef	0.653±0.034 d-g	26.040±2.24 ghi	2.703±0.30 def
B. subtilis 5 L	3.767±0.44 kl	3.350±0.25 hij	0.557±0.033 i	24.733±1.01 j	2.647±0.13 ef
Serenade R	5.300±0.41 cd	4.777±0.30 bcd	0.757±0.033 abc	28.943±0.92 cd	3.413±0.20 ab
Serenade L	4.050±0.45 ijk	3.807±0.14 fgh	0.673±0.034 de	26.620±0.87 fgh	2.977±0.15 cde
T. harzianum 1 R	4.467±0.61 gh	3.843±0.13 fg	0.583±0.012 ghi	27.750±0.72 def	3.010±0.13 cd
T. harzianum 1 L	3.867±0.20 jkl	3.327±0.22 ij	0.563±0.033 i	26.037±1.49 ghi	2.977±0.10 cde
T. longibrachiatum R	5.283±0.61 cd	4.370±0.20 de	0.667±0.029 def	27.747±1.15 def	3.013±0.13 cd
T. longibrachiatum L	3.833±0.30 jkl	3.307±0.27 ij	0.567±0.029 i	25.053±0.91 ij	2.800±0.16 def
T. harzianum 2 R	5.967±0.18 a	5.093±0.14 abc	0.777±0.026 abc	33.333±1.35 a	3.423±0.26 ab
T. harzianum 2 L	3.967±0.47 ijk	3.757±0.18 f-i	0.573±0.029 hi	27.333±2.44 ef	3.030±0.18 cd
Trichorun R	4.800±0.64 efg	4.437±0.17 de	0.703±0.029 cde	28.933±1.31 cd	3.217±0.20 bc
Trichorun L	3.800±0.40 jkl	3.527±0.15 g-j	0.573±0.031 hi	25.473±1.69 hij	3.020±0.27 cd
SA R	5.267±0.37 cd	5.400±0.35 a	0.757±0.033 abc	28.367±1.90 de	3.420±0.14 ab
SA L	5.100±0.51 cde	4.373±0.29 de	0.727±0.029 bcd	27.197±1.83 efg	3.213±0.26 bc
HU R	4.667±0.47 fg	4.360±0.24 fgh	0.657±0.033 def	28.363±2.37 de	3.223±0.19 bc
HU L	4.233±0.48 hi	3.810±0.09 fgh	0.640±0.029 e-h	27.350±1.72 ef	3.017±0.22 cd
Ser R+Tricho R	5.767±0.45 ab	5.510±0.32 a	0.823±0.029 a	31.037±1.53 b	3.647±0.22 a
Ser L+Tricho R	6.067±0.26 a	5.070±0.16 abc	0.797±0.034 ab	29.760±1.42 c	3.413±0.20 abc
Ser R+Tricho L	5.500±0.35 bc	5.300±0.28 ab	0.800±0.008 ab	29.750±0.75 c	3.480±0.18 abc
Ser L+Tricho L	4.133±0.37 hij	3.867±0.14 fg	0.597±0.026 f-i	27.353±0.55 ef	3.030±0.11 cd

R: Root inoculation, L: foliar spraying, SA: Salicylic acid, HA: Humic acid, *B. subtilis* 1 to 5: five indigenous strains of *Bacillus subtilis*, *T. harzianum* 1 to 2: two indigenous strains of *Trichoderma harzianum*, *T. longibrachatum*: *Trichoderma longibrachiatum* strain, Ser+Tricho: combined treatments of Serenade and Trichorun. Means with the same letters in each column are no significantly different and means with different letters in each column are significantly different.

جدول ۲- میانگین (±خطای معیار) غلظت فنل در برگ‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده با سالیسیلیک‌اسید و *Trichoderma harzianum* ، *Bacillus subtilis* و تیمار ترکیبی Trichorun+ Serenade

Table 2. Mean (±SE) phenolic content in tomato leaves after treated with Salicylic acid, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* and combined treatment; Trichorun+ Serenade

Treatment	Control	SA R	*B. subtilis* 1 R	Trichorun R	*T. harzianum* 2R	Ser R+Tricho R	Serenade R
Concentration (mg/g)	0.4629±0.039g	0.8296±0.025f	0.9478±0.018e	1.0928±0.020d	1.2259±0.024c	1.5705±0.014b	1.718±0.034a

R: root inoculation, SA: Salicylic acid, *B. subtilis* 1 R: indigenous *Bacillus subtilis* selected from table 1, *T. harzianum* 2 R: indigenous *Trichoderma harzianum* selected from table 1, Ser+Tricho: combined treatment of Serenade and Trichorun, both root inoculations. Means with different letters are significantly different.

جدول ۳- میانگین (±خطای معیار) تعداد حشرات بالغ و تخم سفیدبالک گلخانه روی برگ‌های گوجه‌فرنگی در تیمارهای سالیسیلیک‌اسید، *Trichoderma harzianum* ، *Bacillus subtilis* و تیمار ترکیبی در آزمون انتخابی (n=6)

Table 3. Mean (±SE) number of adults and eggs of *Trialeurodes vaporariorum* on tomato leaves treated with Salicylic acid, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* and combined treatment in a choice assay (n=6)

Treatment	Adult/ plant	Eggs/ plant
Control	16.833 ± 0.69 a	156 ± 4.1 a
SA R	13.667 ± 0.75 b	113.833 ± 2.36 b
B. subtilis 1 R	9.833 ± 0.69 c	73.5 ± 2.0 c
Trichorun R	7.667 ± 0.75 d	52.333 ± 2.12 d
T. harzianum 2 R	7.167 ± 0.69 d	51.167 ± 1.57 d
Ser R+Tricho R	6.167 ± 0.69 e	43.667 ± 0.96 e
Serenade R	4.833 ± 0.9 f	36.167 ± 1.79 f

R: root inoculation, SA: Salicylic acid, *B. subtilis* 1 R: indigenous *Bacillus subtilis* selected from table 1, *T. harzianum* 2 R: indigenous *Trichoderma harzianum* selected from table 1, Ser+Tricho: combined treatment of Serenade and Trichorun, both root inoculations. Means with different letters are significantly different.

جدول ۴- میانگین (±خطای معیار) تعداد حشرات بالغ تولید شده پشت برگ هر گیاه گوجه‌فرنگی مربوط به تیمارهای سالیسیلیک‌اسید، *Trichoderma harzianum*، *Bacillus subtilis* و تیمار ترکیبی در آزمون غیر انتخابی (n=6)

Table 4. Mean (±SE) number of adults produced on the tomato plants treated with Salicylic acid, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* and combined treatment in a no-choice assay (n=6)

Treatment	Number of adults/plant
Control	77.667 ± 1.64 a
SA R	62.833 ± 1.04 b
B. subtilis 1 R	54 ± 1.29 c
Trichorun R	45.167 ± 0.86 d
T. harzianum 2 R	43.167 ± 1.23 d
Ser R+Tricho R	38.5 ± 0.99 e
Serenade R	33.833 ± 1.66 f

R: root inoculation, SA: Salicylic acid, *B. subtilis* 1 R: indigenous *Bacillus subtilis* selected from table 1, *T. harzianum* 2 R: indigenous *Trichoderma harzianum* selected from table 1, Ser+Tricho: combined treatment of Serenade and Trichorun, both root inoculations. Means with different letters are significantly different.

بحث

القای مقاومت در گیاهان می‌تواند با ایجاد تغییراتی در گیاه، باعث نامناسب شدن گیاه برای گیاهخوار شود و با صرف کمترین هزینه برای گیاه باعث بروز سریع پاسخ‌های دفاعی شود و بر میزان تولیدمثل و ترجیح میزبانی گیاهخوار اثر بگذارد (Walling, 2008; Khalid *et al*., 2015). طبق بررسی‌های انجام‌شده در روزهای سوم و چهارم پس از تلقیح عوامل آنتاگونیست قارچ تریکودرما و ماده شیمیایی SA، ترکیبات فنلی تولید شده در گیاه در بالاترین میزان خود قرار داشته است (Jafarbeigi *et al*., 2020; Aldaghi *et al*., 2021). در پژوهش حاضر، میزان فنل کل با حضور جدایه‌های قارچ تریکودرما و باکتری *B. subtilis* و ماده SA در خاک پای ریشه گوجه‌فرنگی در روز سوم پس از تلقیح، به‌ترتیب در تیمار فرآورده تجاری Serenade R، تیمار ترکیبی Serenade R+Trichorun R و تیمار *T. harzianum* 2 R بیشترین میزان و در شاهد کمترین میزان مشاهده شد که با یافته‌های قبل همخوانی داشت. پژوهش‌های بسیاری نشان داده‌اند که میزان غلظت ترکیبات فنلی با میزان بافت آسیب دیده توسط تغذیه حشره یا آلودگی به عوامل بیمارگر و القا مقاوت ارتباط دارد (Baldwin & Schultz, 1983; Felton *et al*., 1999; Rani & Yasur, 2009). این ترکیبات فنلی به‌عنوان پیش‌ماده آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی عمل کرده و نیز نقش دورکنندگی برای حشرات داشته و می‌توانند مانع از تغذیه، رشد و زنده مانی حشرات گیاه‌خوار شوند و تجمع این ترکیبات در بخش‌های خاصی از گیاه به‌صورت سد تغذیه‌ای عمل می‌کند (Abdul, 2015). یکی از راه‌های بهبود مهار زیستی در ریزوسفر افزودن مخلوط یا ترکیبی از عوامل زیستی است، به‌ویژه اگر این عوامل زیستی نحوه عملکرد متفاوت باهم یا مکمل هم یا توانایی کلون کردن میکروسایت‌های مختلف ریشه را نشان دهند (Whipps, 2001). در پژوهش حاضر، تلقیح گیاه توسط قارچ تریکودرما، باکتری *B. subtilis* و مواد شیمیایی SA و هیومیک‌اسید، در آزمون‌های مرحله اول باعث افزایش معنی‌دار پارامترهای رشدی گیاه گوجه‌فرنگی نسبت به شاهد شدند. در تیمار ترکیبی Trichorun R+ Serenade R و تیمار *T. harzianum* 2 R بوته‌های گوجه‌فرنگی افزایش رشد بیشتری نسبت به تیمارهای دیگر داشتند که نشان‌دهنده سازگاری عوامل قارچ و باکتری باهم است. همچنین تیمار ریشه گیاهان با آنتاگونیست‌های قارچ و باکتری و مواد شیمیایی با اختلاف معنی‌دار نتیجه بهتری نسبت به محلول پاشی اندام هوایی گیاهان داشت. در یک بررسی مخلوط کردن آنتاگونیست‌های *B. subtilis* Bs1 و *T. harzianum* T5 در گیاهان نخود آلوده به پژمردگی با عامل *F. oxysporum* f. sp. *ciceris* منجر به افزایش قابل توجه در پارامترهای رشد در مقایسه با گیاهان تیمار شده با *B. subtilis* Bs1 یا *T. harzianum* T5 به‌صورت انفرادی شد. کاربرد هر دو آنتاگونیست به‌صورت جداگانه یا ترکیبی نه تنها پژمردگی فوزاریوم نخود را کنترل کرد، بلکه باعث رشد گیاه نیز شد. پارامترهای رشد گیاهچه در گیاهان تیمار شده با *T. harzianum* T5 بیشتر از گیاهان دارای *B. subtilis* Bs1 و در مقایسه با نشاهای تیمار نشده به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (Zaim *et al*., 2018). در یافته‌های پژوهش حاضر نیز عملکرد قارچ تریکودرما بهتر از باکتری *B. subtilis* در افزایش پارامترهای رشدی گیاه بود. تلقیح گیاه گوجه‌فرنگی توسط سویه جدیدی از باکتری *B. subtilis* SYS T2 موجب افزایش معنی‌داری در وزن تر، وزن خشک، سطح برگ و طول ریشه و ساقه بوته‌های گوجه‌فرنگی تیمار شده در مقایسه با شاهد شد (Tahir *et al*., 2017). کلونیزاسیون ریشه توسط *T. longibrachiatum* باعث بهبود رشد و نمو گوجه‌فرنگی و افزایش پارامترهای طول ساقه، وزن خشک اندام هوایی و ریشه در مقایسه با گیاهان شاهد شد (Battaglia *et al*., 2013). جدایه *T. harzianum* T22 باعث افزایش قابل توجهی در عملکرد کل (۴۰ درصد) در مقایسه با گوجه‌فرنگی تیمار نشده شد (Carillo *et al*., 2020). نتایج بررسی‌ها نشان‌دهنده آن است که نوع گیاه مورد آزمایش، نوع و مقدار متابولیت‌های ثانوی تولید شده توسط جدایه‌ها و گونه‌های مختلف تریکودرما می‌تواند در میزان اثرات رشدی آنها در تعامل گیاه–تریکودرما تاثیرگذار باشد (Vinale *et al*., 2008). ترشح اسیدهای عالی همچون گلوکونیک‌اسید،

سیتریک‌اسید و فوماریک‌اسید توسط گونه‌های تریکودرما باعث کاهش pH خاک و در نهایت افزایش حلالیت و جذب ریزمغذی‌های مهم مورد نیاز برای رشد گیاه مانند آهن، منگنز، منیزیم، کاتیون‌های معدنی و پتاسیم و فسفات‌ها و تثبیت نیتروژن می‌شود (Altomare *et al.*, 1999; Rudresh *et al.*, 2005; Rokhzadi *et al.*, 2008; Vinale *et al.*, 2008).

مکانیسم‌های شناخته شده مهار زیستی که توسط باکتری‌های محرک رشد گیاه ایجاد می‌شوند عبارتند از: رقابت برای بستر اکولوژیکی، تولید سموم، آنزیم‌ها و سایر محصولات متابولیکی، افزایش رشد گیاه و القا مقاومت سیستمیک در گیاهان میزبان به طیف وسیعی از عوامل بیماریزا و یا تنش‌های زنده و غیرزنده (Sikora *et al.*, 2007). اثرات مفید حاصل از اصلاح خاک با کود زیستی حاوی باکتری جنس *Bacillus* بر طول و وزن بالای گوجه‌فرنگی ممکن است به یک یا چند عامل نسبت داده شود. از جمله: تبدیل فسفر نامحلول به فسفر در دسترس برای استفاده گیاهان، تولید مواد محرک رشد، بهبود جذب آب و مواد مغذی، تولید متابولیت‌های آنتی‌بیوتیکی موثر در برابر پاتوژن‌های خاک و تولید ویتامین‌های گروه B که ظرفیت ریشه زایی را افزایش داده و بر جمعیت جامعه میکروبی تاثیر می‌گذارند (Sharon *et al.*, 2001; Kumar *et al.*, 2024).

با توجه به تعداد نسل و میزان باروری بالا در سفیدبالک‌ها مهمترین عامل در کنترل جمعیت آنها، کاهش نرخ تولیدمثل است. در پژوهش حاضر، تلقیح قارچ و باکتری و SA به گیاه گوجه‌فرنگی باعث کاهش ترجیح میزبانی، تخم‌ریزی و تولیدمثل سفیدبالک گلخانه شد که هم‌راستا با نتایج پژوهش-های از این دست می‌باشد؛ به‌طور مثال در پژوهشی در گیاه گوجه‌فرنگی کلنیزه شده با قارچ *T. harzianum*، و ماده SA، فعال شدن دفاع با واسطه SA موجب کاهش تخم‌ریزی، افزایش طول دوره رشدونمو و افزایش مرگ‌ومیر سفیدبالک *B. tabaci* تا ۳۵ درصد شد (Jafarbeigi *et al.*, 2020). در بررسی دیگری تلقیح قارچ‌های اندوفیت *Fusarium* Fo162، *Trichoderma* سویه‌های MT-20 و S-2 در ریشه گوجه‌فرنگی تعداد حشره سفیدبالک گلخانه، *T. vaporariorum* را در هر گیاه کاهش داده است (Menjivar *et al.*, 2012). در پژوهش حاضر نیز نتیجه مشابه به‌دست آمد. کلنیزه شدن قارچ *T. harzianum* T22 روی ریشه گیاه گوجه‌فرنگی در پاسخ دفاعی گیاه در برابر حمله تغذیه‌ای سن *Nezara viridula* (Linnaeus) کاهش نرخ رشد این حشره را در پی داشته است (Alınç *et al.*, 2021). تلقیح ریشه گیاه گوجه‌فرنگی با باکتری *B. subtilis* سویه BEB-DN باعث افزایش رشد گیاه و ایجاد یک پاسخ مقاومت سیستمیک القایی طولانی مدت در برابر *B. tabaci* به دلیل کاهش قابل‌توجه تعداد شفیره در حال رشد شدند (Valenzuela- Soto *et al.*, 2010). در یک بررسی تلقیح گیاه گندم با سویه‌های *B. subtilis* 26D و *B. subtilis* 11VM منجر به افزایش استقامت گیاه در برابر شته *Schizaphis graminum* (Rondani) و نیز افزایش رشد گیاه شد (Rumyantsev *et al.*, 2023). یافته‌های قبلی نشان می‌دهد که قارچ *Trichoderma* و باکتری *Bacillus* می‌توانند سبب تحولات فیزیولوژیکی در گیاه شده، مکانیسم‌های دفاعی را در میزبان القا کنند و گیاه را در برابر حمله حشره آماده‌تر کنند (Harman *et al.*, 2004; Radwan *et al.*, 2012). نکته قابل توجه این است که حشرات مکنده مانند شته‌ها و سفیدبالک‌ها استایلت انعطاف پذیر خود را بین سلول‌ها وارد می‌کنند و واکنش گیاه به آسیب آنها به واکنش گیاه به بیماری‌های گیاهی بسیار شبیه‌تر است تا به آسیب حشرات با قطعات دهانی جونده (Worrall *et al.*, 2011; Menjivar *et al.*, 2012; Bawa *et al.*, 2019). سفیدبالک‌ها مسیر دفاعی SA را فعال کرده و مسیر دفاعی جاسمونیک‌اسید را سرکوب می‌کنند (Worrall *et al.*, 2011; Menjivar *et al.*, 2012; Khalid *et al.*, 2015). در حالی‌که فعال شدن مسیر SA بیشتر در مورد بیماری‌های گیاهی، قارچ‌های میکوریز و قارچ‌های خاکزی، از جمله *Trichoderma* دیده شده است (Worrall *et al.*, 2011; Alizadeh *et al.*, 2013; Bawa *et al.*, 2019). بنابراین، با توجه به اینکه تغذیه حشرات مکنده از گیاه و استقرار و تکثیر قارچ در ریشه گیاه هر دو از یک مسیر مشابه

(مسیر سالیسیلیک‌اسید)، منجر به القای مقاومت در گیاه می‌شوند (Worrall *et al.*, 2011)، استفاده از قارچ تریکودرما به‌صورت تلقیح ریشه گیاه می‌تواند اثر هم‌افزایی در فعالسازی سیستم دفاعی گیاه در برابر حمله سفیدبالک داشته باشد.

در این پژوهش، با توجه به کاهش ترجیح و تخم‌ریزی سفیدبالک گلخانه در اثر کاربرد قارچ *Trichoderma* و باکتری *Bacillus* در گیاه می‌توان استنباط کرد که حضور آنها در جلوگیری از افزایش طغیانی این آفت چند نسلی در گلخانه موثر خواهد بود. مطالعه حاضر نشان داد که آنتاگونیست‌های باکتریایی سویه *B. subtilis* و قارچی سویه *T. harzianum* موجب افزایش معنی‌دار رشد گیاه و محافظت از گیاه گوجه‌فرنگی در برابر سفیدبالک *T. vaporariorum* در شرایط گلخانه شدند. علاوه بر این، طبق یافته‌های پژوهش حاضر اگرچه تیمار ترکیبی عوامل قارچ و باکتری (Serenade R + Trichorun R) موجب بهبود پارامترهای رشدی گیاه نسبت به تیمارهای انفرادی شد، اما در مواجهه با حشرات سفیدبالک ضعیف‌تر از تیمار Serenade R ظاهر شد که این نتیجه با میزان مواد فنلی تولید شده توسط تیمار ترکیبی همخوانی دارد؛ زیرا میزان مواد فنلی تولید شده توسط تیمار ترکیبی کمتر از تیمار Serenade R است. علت این امر ممکن است به‌دلیل رقابت برای فضا و مواد مغذی پارازیتیسم، تولید آنزیم‌ها و متابولیت‌های فرار و غیرفرار یا ترکیبی از این مکانیزم‌ها باشد (Ayoubi *et al.*, 2012)، که القای مقاومت در گیاه را تا حدودی تحت تاثیر قرار می‌دهد. به‌طورکلی القای مقاومت درگیاه هیچ‌گونه اثر منفی بر محیط زیست و سلامت انسان ندارد و در محیط بسته گلخانه نسبت به شرایط مزرعه راحت‌تر می‌توان از آن در تلفیق با دیگر روش‌های حفاظت گیاه به‌منظور کاهش جمعیت حشرات آفت استفاده نمود. در نهایت، انجام پژوهش‌های تکمیلی برای بررسی تعیین مناسب‌ترین روش کاربرد این جدایه‌ها در سطح وسیع در تلفیق با سایر عوامل کنترلی پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

این پژوهش با استفاده از امکانات موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور انجام شده که بدین‌وسیله از مدیریت محترم موسسه و بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک تشکر و قدرانی می‌شود.

References

Abdul, R. W., Barkat, H., & Sharma, H. C. (2015). Induced resistance in groundnut by jasmonic acid and salicylic acid through alteration of trichome density and oviposition by *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *AoB Plants*, *5*, 1-9. **DOI: https://doi.org/10.1093/aobpla/plt053**

Aldaghi, M., Allahyari, H., Hosseini-Naveh, V., & Behboodi, K. (2021). Effect of *Trichoderma harzianum* Tr6 in inducing resistance against greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Hem.: Aleyodidae) in Tomato. *Plant Protection*, *44*(3), 107-119. **DOI: https://doi.org/10.22055/ppr.2021.17128** (In Farsi)

Alınç, T., Cusumano, A., Peri, E., Torta, L., & Colazza, S. (2021). *Trichoderma harzianum* Strain T22 modulates direct defense of tomato plants in response to *Nezara viridula* feeding activity. *Journal of Chemical Ecology*, *47*(4), 455-462. **DOI: https://doi.org/10.1007/s10886-021-01260-3**

Alizadeh, H. R., Behboudi, K., Ahmadzadeh, M., Javan-Nikkhah, M., Zamioudis, C., Pieterse, C. M. J., & Bakker, P. H. M. (2013). Induced systemic resistance in cucumber and *Arabidopsis thaliana* by the combination of *Trichoderma harzianum* Tr6 and *Pseudomonas* sp. Ps14. *Biological Control*, *65*, 14-23. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.01.009**

Altomare, C., Norvell, W. A., Bjo¨rkman, T., & Harman, G. E. (1999). Solubilization of Phosphates and Micronutrients by the Plant-Growth-Promoting and Biocontrol Fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Applied and Environmental Microbiology*, *65*(7), 2926-2933. **DOI: https://doi.org/10.1128/AEM.65.7.2926-2933.1999**

Ayoubi, N., Zafari, D., & Mirabolfathy, M. (2012). Combination of *Trichoderma* species and *Bradyrhizobium japonicum* in control of *Phytophthora sojae* and soybean growth. *Journal of Crop Protection, 1*(1), 67-79. **DOI: https://doi.org/20.1001.1.22519041.2012.1.1.4.5**

Bagheri, S., Kocheily, F., Mosadegh, M. S., & Shishehbor, P. (2012). Investigation on population changes of jasmine whitefly *Aleuroclava jasmini* (Takahashi) (Homo.: Aleyrodidae) in citrus orchards of Dezful city. 20th Iranian Plant Protection Congress. 25-28 August, Shiraz. pp. 666. (In Farsi)

Baldwin, I. T., & Schultz, J. C. (1983). Rapid changes in tree leaf chemistry induced by damage: evidence for communication between plants. *Science, 221*, 277-279. **DOI: https://doi.org/10.1126/science.221.4607.277**

Battaglia, D., Bossi, S., Cascone, P., Digilio, M. C., Prieto, J. D., Fanti, P., Guerrieri, E., Iodice, L., Lingua, G., Lorito, M., & Maffei, M. E. (2013). Tomato below ground–above ground interactions: *Trichoderma longibrachiatum* affects the performance of *Macrosiphum euphorbiae* and its natural antagonists. *Molecular Plant-Microbe Interactions, 26*(10), 1249-1256. **DOI: https://doi.org/10.1094/MPMI-02-13-0059-R**

Bawa, G., Feng, L., Yan, L., Du, Y., Shang, J., Sun, X., Wang, X., Yu, L., Liu, C., Yang, W., & Du, J. (2019). Pre-treatment of salicylic acid enhances resistance of soybean seedlings to *Fusarium solani*. *Plant Molecular Biology, 101*(3), 315-323. **DOI: https://doi.org/10.1007/s11103-019-00906-x.**

Blake, C., Christensen, M. N., & Kovács, Á. T. (2021). Molecular aspects of plant growth promotion and protection by *Bacillus subtilis*. *Molecular Plant-Microbe Interactions, 34*(1), 15-25. **DOI: https://doi.org/10.1094/MPMI-08-20-0225-CR**

Carillo, P., Woo, L. S., Comite, E., El-Nakhel, C., Rouphael, Y., Fusco, G. M., Borzacchiello, A., Lanzuise, S., & Vinale, F. (2020). Application of *Trichoderma harzianum*, 6-Pentyl-α-pyrone and plant biopolymer formulations modulate plant metabolism and fruit quality of plum tomatoes. *Plants, 9*, 771. **DOI: https://doi.org/10.3390/plants9060771**

Coppola, M., Diretto, G., Digilio, M. C., Woo, S. L., Giuliano, G., Molisso, D., Pennacchio, F., Lorito, M., & Rao, R. (2019). Transcriptome and metabolome reprogramming in tomato plants by *Trichoderma harzianum* strain T22 primes and enhances defense responses against aphids. *Frontiers in Physiology, 10*, 745-754. **DOI: https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00745**

Farrokhi, S. (2016). Localization of commercial production of *Encarsia formosa* (Hym., Aphelinidae), the parasitoid of greenhouse whitefly. The final report of the research project of the Iranian Research Institute of Plant Protection. Frost number, 50720, 25 p. (In Farsi)

Felton, G. W., Korth, K. L., Bi, J. L., Wesley, S. V., Huhman, D. V., Mathews, M. C., & Murphy, J. B. (1999). Inverse relationship between systemic resistance of plants to microorganisms and to insect herbivory. *Current Biology, 9*, 317-320. **DOI: https://doi.org/10.1016/S0960-9822(99)80140-7**

Ghamari, M., Hosseininaveh, V., Talebi, K., Nozari, J., & Allahyari, H. (2020). Biochemical characterization of the induced immune system of pistachio (*Pistacia vera*) by Salicylic Acid. *International Journal of Fruit Science, 20*(2), 117-132. **DOI: https://doi.org/10.1080/15538362.2019.1586025**

Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., & Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology, 2*, 43-56. **DOI: https://doi.org/10.1038/nrmicro797**

Hashem, A., Tabassum, B., & Abd-Allah, E. F. (2019). *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. *Saudi Journal of Biological Sciences, 26*(6), 1291-1297. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.05.004**

Jafarbeigi, F., Samih, M. A., Alaei, H., & Shirani, H. (2020). Induced tomato resistance against *Bemisia tabaci* triggered by salicylic acid, β-aminobutyric acid, and *Trichoderma*. *Neotropical Entomology, 49*(3), 456-467. **DOI: https://doi.org/10.1007/s13744-020-00771-0**

Kafi, M., Babalar, M., Nikbakht, A., Ebrahimzadeh, H., Etemadi, N., & Samavat, S. (2009). Effect of humic acid spray on nutrients uptake, protein content and postharvest life of *Gerbera jamesonii* L. cv. Malibu. *Iranian Journal of Horticultural Science, 8*, 238-248. (In Farsi) **http://ijhs.ut.ac.ir/?_action=articleInfo&article=19944&vol=1976**

Khalid, A. S., Mohamad Roof, M. N., Rebecca, H. H., & Idris, A. B. (2015). Aphid-induced defences in chilli affect preferences of the whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Scientific Reports*, *5*(13), 1-9. **DOI: https://doi.org/10.1038/srep13697**

Kumar, S., Arutselvan, A. R., Masurkar, P., Singh, U. B., Tripathi, R., Bhupenchandra, I., Minkina, T., & Keswani, C. (2024). *Bacillus subtilis*-Mediated Induction of Disease Resistance and Promotion of Plant Growth of Vegetable Crops. In Mageshwaran, V., Singh, U. B., Saxena, A. K., & Singh, H. B. (Eds). Applications of *Bacillus* and *Bacillus* Derived Genera in Agriculture, Biotechnology and Beyond. Springer Nature Singapore. pp. 165-211. **DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-99-8195-3_9**

Liorens, E., García-Agustín, P., & Lapeña, L. (2017). Advances in induced resistance by natural compounds: towards new options for woody crop protection. *Science Agriculture*, *74*, 90-100. **DOI: https://doi.org/10.1590/1678-992X-2016-0012**

Maketon, M., Apisitsantikul, J., & Siriraweekul, C. (2008). Greenhouse evaluation of *Bacillus subtilis* AP-01 and *Trichoderma harzianum* AP-001 in controlling tobacco diseases. *Brazil Journal of Microbiology*, *39*, 296-300. **DOI: https://doi.org/10.1590/S1517-838220080002000018**

McLean, K. L., Hunt, J. S., Stewart, A., Wite, D., Porter, I. J., & Villalta, O. (2012). Compatibility of a *Trichoderma atroviride* biocontrol agent with management practices of Allium crops. *Crop Protection*, *33*, 94-100. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.11.018**

Menjivar, R. D., Cabrera, J. A., Kranz, J., & Sikora, R. A. (2012). Induction of metabolite organic compounds by mutualistic endophytic fungi to reduce the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) infection on tomato. *Plant and Soil, 352*(1), 233-241. **DOI: https://doi.org/10.3390/agriculture10120587**

Pourtaghi, E., Talaei-Hassanloui, R., Nasibi, F., & Fotouhifar, K. B. (2020). Endophytic colonization of tomato by *Beauveria bassiana* for control of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Acta Biologica*, *27*, 149-160. **DOI: https://doi.org/10.18276/ab.2020.27-14**

Radwan, M. A., Farrag, S. A. A., Abu-Elamayem, M. M., & Ahmed, N. S. (2012). Biological control of the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato using bioproducts of microbial origin. *Applied Soil Ecology, 56*, 58-62. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2012.02.008**

Rani, P. U., & Yasur, J. (2009). Physiological changes in groundnut plants induced by pathogenic infection of *Cercosporidium personatun* Deighton. *Allelopathy Journal*, *23*(2), 369-378.

Rokhzadi, A., Asgazadeh, A., Darvish, F., Nour-Mohammed, G., & Majidi, E. (2008). Influence of plant growth promoting rhizobacteria on dry matter accumulation and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under field conditions. *American Eurasian Journal of Agriculture Environmental Science, 3*, 253-257.

Rudresh, D. L., Shivaprakash, M. K., & Prasad, R. D. (2005). Effect of combined application of Rhizobium, phosphate solubilizing bacterium and *Trichoderma spp*. on growth, nutrient uptake and yield of chickpea (*Cicer aritenium* L.). *Applied Soil Ecology*, *28*, 139-146. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2004.07.005**

Rumyantsev, S. D., Alexeeve, V. Y., Sorokan, A. V., Burkhanova, G. F., Cherepanova, E. A., Garafutdinov, R. R., Maksimov, I. V., & Vesolova, S. V. (2023). Additive effect of the composition of endophytic bacteria *bacillus subtilis* on systemic resistance of wheat against greenbug aphid *Schizaphis graminum* due to lipopeptides. *Life*, *13*(1), 214. **DOI: https://doi.org/10.3390/life13010214**

Sharon, E., Bar-Eyal, M., Chet, I., Herrera-Estrella, A., Kleifeld, O., & Spiegel, Y. (2001). Biological control of root knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology, 91*, 687-693. **DOI: https://doi.org/10.1094/PHYTO.2001.91.7.687**

Sikora, R. A., Schäfer, K., & Dababat, A. A. (2007). Modes of action associated with microbially induce in planta suppression of plant-parasitic nematodes. *Australasian Plant Pathology, 36*, 124-134. **https://link.springer.com/article/10.1071/AP07008**

Tahir, H. A., Gu, Q., Wu, H., Raza, W., Hanif, A., Wu, L., Colman, M. V., & Gao, X. (2017). Plant growth promotion by volatile organic compounds produced by *Bacillus subtilis* SYST2. *Frontiers in Microbiology*, *8*, 171-180. **DOI:** https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00171

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*(2), 397-410. **DOI: https://doi.org/10.1007/s00425-009-1061-9.**

van Lenteren, J. C., Szabo, P., & Huisman, P. W. T. (1992). The parasite-host relationship between *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera, Aphelinidae) and *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera, Aleyrodidae). *Journal of Applied Entomology, 114*(5), 392-399. **DOI: https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.1992.tb01142.x**

van Lenteren, J. C. (2000). A greenhouse without pesticides: fact or fantasy? *Crop Protection, 19*(6), 375-384. DOI: https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00038-7

Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S., & Lorito, M. (2008). *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry, 40*(1), 1-10. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.07.002**

Walling, L. (2008). Avoiding effective defences: Strategies employed by phloem-feeding insects. *Plant Physiology, 146*, 859-866. https://doi.org/10.1104/pp.107.113142

Whipps, J. M. (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany, 52*, 487-511. **DOI: https://doi.org/10.1093/jexbot/52.suppl_1.487**

Worrall, D., Holroyd, G. H., Moore, J. P., Glowacz, M., Croft, P., Taylor, J. E., Paul, N. D., & Roberts, M. R. (2012). Treating seeds with activators of plant defence generates long-lasting priming of resistance to pests and pathogens. *New Phytologist, 193*(3), 770-778. **DOI: https://doi.org/10.1111/j.1469-137.2011.03987.x**

Wu, J., & Baldwin, I. T. (2010). New insights into plant responses to the attack from insect herbivores. *Annual Review of Genetics, 44*, 1-24. **DOI: https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-genet-102209-163500**

Zaim, S., Bekkar, A. A., & Belabid, L. (2018). Efficacy of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* combination on chickpea Fusarium wilt caused by *F. oxysporum* f. sp. *ciceris*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection, 51*(3-4), 217-226. **DOI: https://doi.org/10.1080/03235408.2018.1447896.**

Plant Pest Research
2024- 14 (2): 1-15

Open access
doi: 10.22124/iprj.2024.27419.1576
pISSN: 2322-2409
eISSN: 2538-6123

Effect of *Trichoderma* spp. and *Bacillus subtilis* in tomato growth factors and induction of resistance to greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Hem.: Aleyrodidae)

Z. Nemati[1], Y. Karimpour[2*], S. Farrokhi[3] and S. Naeimi[4]

1 &2. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran, 3 & 4. Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

1. 0009-0009-0372-4294, 2. 0000-0003-2468-8367, 3. 0000-0002-3056-0610, 4. 0000-0001-7508-3056

(Received: May 7, 2024- Accepted: July 31, 2024)

Abstract

One of the effective methods to reduce pest damage is to induce resistance in plants. This study investigated the impact of inducing resistance using indigenous isolates of *Trichoderma* spp. and a commercial product (Trichorun), as well as indigenous isolates of *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) and a commercial product (Serenade), along with chemical compounds like Salicylic acid and Humic acid on the host preference and oviposition of the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), as well as on plant growth factors. Four tests were conducted to assess the effects of these treatments on the growth factors of tomato (Vadaro 1012), total phenol levels, host preference and oviposition of whitefly in the greenhouse conditions (25 ± 2°C, 60-70% RH, 16:8 h light: dark). The results indicated that the root treatment of the plants with the native strain of *Trichoderma harzianum* (Rifai) and the treatment of the combination of Trichorun with Serenade have the best performance in plant growth with a significant increase in the root volume, fresh and dry weight of the root and aerial parts of tomato compared to the control. Compared to control, Serenade treatment showed the best results in measuring total phenol, host preference and oviposition of whitefly in the greenhouse with a significant decrease in the average number of insects attracted to the leaf underside, and egg laying rate in the selective test and emerged adult insects in F1generation in the non-selective test. The findings of this research showed that root inoculation with native isolates of *T. harzianum* fungus and *B. subtilis* bacteria increased tomato growth factors, induced resistance to greenhouse whitefly and reduction of host preference and oviposition of whitefly.

Key words: Antagonist, Greenhouse whitefly, Host preference, Induced resistance

*Corresponding author: y.karimpour@urmia.ac.ir

CC BY