Journal of Advanced Researches in Medicinal Plants, 2 (1): 27-36, (2023)

Effect of *Trichoderma harzianum* isolates on growth responses of sage (*Salvia officinalis* L.) and defence eliciting capacity against *Rhizoctonia solani*

Alimosazadeh Pedram[1], Sanei Seyed Javad[2*], Razavi Seyed Esmael[3]

[1]B.Sc. Student, Dept. of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
[2]Assistant Professor, Dept. of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
[3]Associate Professor, Dept. of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

ABSTRACT INFO

Research Paper

Received: 23 Apr 2023

Accepted: 11 Jun 2023

ABSTRACT

This experiment was designed to investigate the effect of six isolates of *Trichoderma harzianum* on growth and defence eliciting capacity against *Rhizoctonia solani* in sage (*Salvia officinalis* L.). The sage seeds treated with different *T. harzianum* isolates were planted in infested soil with *R. solani* and total plant dry matter and damping off severity measured 40 days after planting. The total phenolic contents and antioxidant activity were assessed by colorimetric methods. The results showed that seed treated with four *T. harzianum* isolates significantly increased total dry weight with average 22.88% and reduced the percent of damping off from 67.50% in infected plants to 41.00-14.20%. A quaratic model was fitted between total dry weight and disease percent. Total phenolic compounds and antioxidant activity increased with *T. harzianum* treatments and the changes in disease percent as a function of total phenol fitted a quadratic model. On the basis of all studied traits, different *T. harzianum* isolates devided in 2 groups with subgroups in second cluster. Findings indicate that the growth and defense responses of sage significantly enhanced by seed treatment with several isolates of *T. harzianum* and as a biotechnologic approach can be suggested to improve plant growth and *R. solani* resistance.

Key words: Biological control, Damping off, Sage, Total phenol.

How to cite this article:
Alimosazadeh P, Sanei SJ, Razavi SE. 2023. Effect of *Trichoderma harzianum* isolates on growth responses of sage (*Salvia officinalis* L.) and defence eliciting capacity against *Rhizoctonia solani*. Journal of Advanced Researches in Medicinal Plants 2 (1): 27-36. (In Farsi)
DOI: 10.30479/ARMP.2023.18666.1013

©The Author(s).
Publisher: Imam Khomeini International University
ARMP is an open access journal under the CC BY license (http://creativecommons.org/licenses/BY/4.0/)

*Corresponding Author Email: **sanei@gau.ac.ir**

نشریه پژوهش‌های پیشرفته در گیاهان دارویی، دوره دوم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۲، ص ۳۶-۲۷

تاثیر برخی از جدایه‌های قارچ *Trichoderma harzianum* بر رشد گیاه دارویی مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) و القای مقاومت علیه *Rhizoctonia solani*

پدرام علی‌موسی‌زاده[۱]، سیدجواد صانعی[۲*]، سیداسماعیل رضوی[۳]

[۱]دانشجوی کارشناسی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
[۲]استادیار، گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
[۳]دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان

اطلاعات مقاله

علمی-پژوهشی

دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۰۳

پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۲۱

چکیده

در این مطالعه تأثیر شش جدایه از قارچ *Trichoderma harzianum* بر رشد گیاه دارویی مریم‌گلی (*Salvia officinalis* L.) و پاسخ‌های دفاعی گیاه علیه *Rhizoctonia solani*، عامل بیماری مرگ گیاهچه، بررسی شد. بذرهای مریم‌گلی پس از تیمار با جدایه‌های مختلف *T. harzianum* در خاک آلوده به *R. solani* کشت، و پس از ۴۰ روز، وزن خشک گیاه و درصد بیماری مرگ گیاهچه بررسی شد. اندازه‌گیری مقدار کل فنول و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش رنگ‌سنجی انجام شد. نتایج آزمایش، اثر مثبت چهار جدایه از قارچ مورد بررسی را بر افزایش وزن خشک بوته با میانگین ۲۲٫۸۸ درصد و کاهش بیماری مرگ گیاهچه را از ۶۷٫۵۰ به ۴۱٫۰۰-۱۴٫۲۰ درصد نشان داد. ارتباط بین وزن خشک کل و درصد بیماری به صورت معادله درجهٔ ۲ به دست آمد. مقدار فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تیمار با *T. harzianum* افزایش داشت و تغییرات درصد بیماری و مقدار فنول کل به صورت معادلهٔ درجه ۲ محاسبه شد. جدایه‌های مختلف *T. harzianum* با توجه به اطلاعات مربوط به صفات مورد مطالعه در دو گروه معنی‌دار با دو زیرگروه در خوشهٔ دوم گروه‌بندی شدند؛ به این ترتیب، پوشش بذر توسط برخی از جدایه‌های *T. harzianum* به‌طور قابل‌توجهی رشد می‌کند و پاسخ‌های دفاعی مریم‌گلی را افزایش می‌دهد و می‌تواند به‌عنوان رهیافتی زیست‌فناور برای بهبود رشد و مقاومت به تنش ناشی از *R. solani* پیشنهاد شود.

کلمات کلیدی: فنولِ کل، مرگ گیاهچه، مریم‌گلی، مهار زیستی.

استناد به این مقاله

Alimosazadeh P, Sanei SJ, Razavi SE. 2023. Effect of *Trichoderma harzianum* isolates on growth responses of sage (*Salvia officinalis* L.) and defence eliciting capacity against *Rhizoctonia solani*. Journal of Advanced Researches in Medicinal Plants 2 (1): 27-36. (In Farsi)

DOI: 10.30479/ARMP.2023.18666.1013

حق‌مؤلف © نویسندگان
ناشر: دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)

[*]نشانی پست الکترونیکی نویسنده مسئول: **sanei@gau.ac.ir**

مقدمه

جایگاه کشت گیاهان دارویی در نظام‌های سنتی کشاورزی ایران از دیرباز مورد توجه بوده است و این نظام‌ها در ایجاد تنوع و پایداری گیاهان دارویی نقش مهمی ایفا کرده‌اند (Koochaki *et al*., 2004). اعضای خانواده نعناع به دلیل انعطاف‌پذیری بسیار زیاد نسبت به اقلیم‌های متنوع، یکی از ذخایر ژنتیکی مهم گیاهی به شمار می‌روند و به دلیل وجود ترکیبات گوناگون در آن‌ها از جمله ترکیبات فنولی و فلانوئیدی در صنایع غذایی، دارویی، بهداشتی و آرایشی کاربرد فراوان دارند. جنس *Salvia* از جنس‌های مهم خانواده نعناعیان است که حدود ۱۰۰۰–۷۰۰ گونه در سراسر جهان دارد و رویش آن به‌ویژه در مناطق گرمسیری و معتدل وسیع است (Walker *et al*., 2004; Drew *et al*., 2017). این جنس در ایران بیش از ۷۰ گونه با ۱۷ گونه بومی را شامل می‌شود (Habibi *et al*., 2008).

مریم‌گلی با نام علمی *Salvia officinalis* L.، گیاهی دوساله، علفی، ایستاده به ارتفاع ۶۰–۳۰ سانتی‌متر است. این گیاه بسیار معطر است و در کنار جاده‌ها، سواحل خشک و دامنه‌های سنگلاخی بیشتر نواحی اروپا، جنوب غربی و مرکزی آسیا و شمال آفریقا می‌روید و با توجه به ظاهر زیبا، به عنوان گیاهی زینتی نیز پرورش می‌یابد (Khedher *et al*., 2017). این گیاه در طب سنتی کاربردهای فراوانی از جمله ضداسپاسم، قابض، آرام‌بخش، کاهش‌دهندهٔ قند خون، ضد التهاب و کاهش‌دهندهٔ تعریق دارد (Cardile *et al*., 2009; Özcan *et al*., 2009). اسانس مریم‌گلی علاوه بر استفاده دارویی در صنایع غذایی به عنوان طعم‌دهنده و نگه‌دارنده نیز استفاده می‌شود (Demirci *et al*., 2005).

تنش‌های غیرزیستی و زیستی از طریق سازوکارهای مختلف، مراحل رشد اولیه و عملکرد گیاه مریم‌گلی را کاهش می‌دهند (Reuveni *et al*., 2002). در این رابطه، بیشترین خسارت از بیمارگرهای گیاهچه و ریشه به وجود می‌آید (Cakir *et al*., 2017). بیماری مرگ گیاهچه یکی از بیماری‌های مریم‌گلی است که جوانه‌زدن بذر و رشد اولیهٔ گیاهچه را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. این بیماری دارای گسترش جهانی است و توسط عوامل بیماری‌زای مختلف به‌ویژه عوامل قارچی و شبه‌قارچی *Rhizoctonia solani* Kühn (Tassi) Goid، *Fusarium* spp.، *Macrophomina phasolina* *Phytophthora cryptogea Pethybr. & Laff.* و *Pythium ultimum* Trow ایجاد می‌شود. این بیمارگرها بر کلیهٔ مراحل رشدی گیاه مریم‌گلی به‌ویژه در کاهش جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه نقش دارند (Shabana *et al*., 2016). با توجه به ماهیت خاک‌زی بودن عوامل بیماری‌زای مرگ گیاهچه و رضایت‌بخش نبودن روش‌های شیمیایی در کاهش ایجاد بیماری، بهبود رشد اولیهٔ گیاهچه و پرهیز از آلودگی مورد توجه محققان قرار گرفته است (Al-Sohaibani *et al*., 2011).

در دو دههٔ اخیر، کاربرد ریزموجودات سودمند برای بهبود سیستم زیستی خاک به‌طور وسیع مورد توجه بوده است (Nadjafi *et al*. 2014). از بین ریزموجودات خاک‌زی، گونه‌های مختلف جنس *Trichoderma* به‌عنوان همزیست‌های گیاهی برای اصلاح سوخت‌وساز و افزایش رشد گیاه یا مهارزیستی در بخش کشاورزی استفاده شده‌اند (Harmosa *et al*., 2012). این قارچ‌ها علاوه بر افزایش رشد گیاه و بازدهی محصولات مختلف با سازوکارهای ویژه از جمله تولید آنزیم‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها و نفوذ در بدنهٔ قارچ‌های بیماری‌زا، سبب مهار زیستی بیمارگرهای خاک‌زی می‌شوند (Wu *et al*., 2019). از مهم‌ترین سازوکارهای مهارزیستی توسط گونه‌های مختلف *Trichoderma* تحریک سیستم دفاعی گیاه از جمله افزایش ترکیبات فنولی، پروتئین‌های مؤثر در برابر بیماری و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی است که با افزایش مقاومت سیستمیک میزبان در برابر عوامل بیماری‌زا همراه است (Zimowska *et al*., 2020). در این رابطه، ترکیبات فنولی با حفاظت از گیاهان در برابر تنش‌های زیستی و غیرزیستی در برهم‌کنش گیاهان با محیط، نقش مهمی دارند. افزایش این ترکیبات در ارتباط با مقاومت گیاهان علیه بیمارگرهای مختلف گزارش شده است (Woo *et al*., 2006; Ilham *et al*., 2019; Behiry *et al*., 2023).

با توجه به گسترش کاربرد گیاه دارویی مریم‌گلی در صنایع غذایی، آرایشی و دارویی، هم‌چنین اهمیت استفاده از کودهای زیستی در راستای توسعهٔ کشاورزی پایدار و کاهش آسیب‌های ناشی از تنش‌های زیستی، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر شش جدایه از قارچ *T. harzianum* بر افزایش رشد گیاه مریم‌گلی و مهار بیماری مرگ گیاهچه انجام شد. در این مطالعه هم‌چنین سازوکار تغییر آلودگی ناشی از *R. solani* در حضور قارچ *Trichoderma* بررسی شد.

مواد و روش‌ها

جدایه‌های *R. solani* و *T. harzianum*

قارچ *R. solani* و شش جدایه از *T. harzianum* از کلکسیون گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تهیه شد. منشأ قارچ بیمارگر از گیاهان مریم‌گلی و جدایه‌های *T. harzianum* از خاک زراعی بوده است. این قارچ‌ها تا زمان استفاده روی محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA[1]) در دمای ۷-۵ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند.

تهیهٔ مایهٔ تلقیح و خاک آلوده به *R. solani*

مایهٔ تلقیح *R. solani* از کشت ٤ قطعهٔ ۵ میلی‌متری از حاشیهٔ پرگنهٔ چهار روزهٔ قارچ روی محیط کشت PDA در مخلوط ماسه و آرد ذرت (به نسبت ۹ به ۱) اتوکلاو شده به دست آمد. به ازای هر ۱۰۰ گرم مخلوط به دست آمده ۱۰ میلی‌لیتر آب در نظر گرفته شد. ظروف کشت به مدت ٤ هفته در دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس نگه‌داری شد. برای آلوده کردن خاک سترون‌شده از مایهٔ تلقیح به مقدار ۱٫۵ درصد وزنی استفاده، (Bienkowski *et al*., 2010) و از مخلوط آرد ذرت و ماسهٔ سترون برای گلدان‌های شاهد استفاده شد. جدول ۱ ویژگی‌های خاک مورد استفاده قبل از سترون را نشان می‌دهد.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده

بافت خاک	نیتروژن (ppm)	فسفات (ppm)	پتاسیم (ppm)	pH	EC (دسی زیمنس بر متر)
لومی- رُس	۱۱٫۵	۱٤٫۷	۲۷۵	۷٫۳۵	۱٫۲٤

تهیهٔ سوسپانسیون اسپور از جدایه‌های مختلف *T. harzianum*

برای تهیهٔ سوسپانسیون اسپور، سطح پرگنه‌ها در جدایه‌های مختلف *T. harzianum* پس از رشد روی محیط کشت PDA به مدت یک هفته در شرایط تاریکی و دمای ۲۵±۲ درجهٔ سلسیوس با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون پوشانده و خراش داده شد. پس از افزایش غلظت سوسپانسیون اسپور توسط سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه، غلظت مایهٔ تلقیح توسط لام هماسیتومتر به میزان ۱×۱۰^{۷} اسپور در هر میلی‌لیتر رسانده شد (Safari Motlagh and Abolghasemi, 2021).

کشت گیاه

بذرهای مریم‌گلی پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت‌سدیم یک درصد به مدت دو دقیقه و شسته‌شدن با آب مقطر، توسط سوسپانسیون اسپور جدایه‌های مختلف *T. harzianum* پوشش داده شدند. برای پوشش‌دادن بذرها از سوسپانسیون ۱×۱۰^{۷} اسپور در هر میلی‌لیتر حاوی ۰٫۵ درصد کربوکسی‌متیل سلولز استفاده شد. بذرها به تناوب شش بار در این سوسپانسیون قرار گرفتند و زیر هود لامینار خشک شدند (Mehrabi-Koushki *et al*., 2012). برای تیمار شاهد از محلول کربوکسی‌متیل سلولز ۰٫۵ درصد استفاده شد. بذرها پس از کشت در گلدان‌های پلاستیکی با ابعاد ۱۵×۲۰ سانتی‌متر حاوی خاک مزرعه در شرایط گلخانه با دمای روزانه ۲۱ تا ۲۸ و شبانه ۱۵ تا ۱۸ درجهٔ سلسیوس قرار گرفتند.

اندازه‌گیری صفات رشدی و ارزیابی بیماری

پس از گذشت ٤۰ روز از کاشت بذرها، وزنِ خشک گیاه بعد از قرار گرفتن کل بوته به مدت ٤۸ ساعت در دمای ۷۲ درجهٔ سلسیوس، اندازه‌گیری شد. درصد بیماری بوته‌ها از نظر مرگ گیاهچه بر اساس درصد تغییر رنگ ریشه و ساقه، محاسبه شد (Brewer and Larkin, 2005).

اندازه‌گیری فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

غلظت فنول کل در ۰٫۱ گرم از بافت ریشه به روش رنگ‌سنجی توسط معرف فولین- سیوکالتو در طول موج ۷۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای تهیهٔ منحنی استاندارد از اسیدگالیک استفاده شد و مقدار فنول کل برحسب میلی‌گرم معادل اسید گالیک در یک گرم ریشه به دست آمد (Malencic *et al*., 2007).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از مهار رادیکال‌های DPPH[2] استفاده شد. در این روش، درصد فعالیت خنثی‌کنندگی رادیکال DPPH به روش رنگ‌سنجی در طول موج ۵۱۷ نانومتر محاسبه گردید (Milat *et al*., 2019).

تجزیه‌وتحلیل آماری

این آزمایش در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایهٔ طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل جدایه‌های مختلف قارچ *T. harzianum* (شش سطح همراه با شاهد) در حضور یا عدم حضور قارچ بیمارگر بود. با در نظر گرفتن سطح اطمینان $P\leq۰٫۰۵$ در تجزیهٔ واریانس یک عاملی (One way ANOVA) از آزمون کمترین تفاوت معنی‌دار (LSD)

[1] Potato dextrose agar

[2] 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

برای مقایسهٔ میانگین داده‌ها استفاده شد. تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها و ترسیم شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار R 4.1.1 صورت گرفت. ارتباط جدایه‌های *T. harzianum* بر اساس اطلاعات به دست آمده با استفاده از خوشه‌بندی داده‌ها به روش UPGMA انجام شد.

نتایج

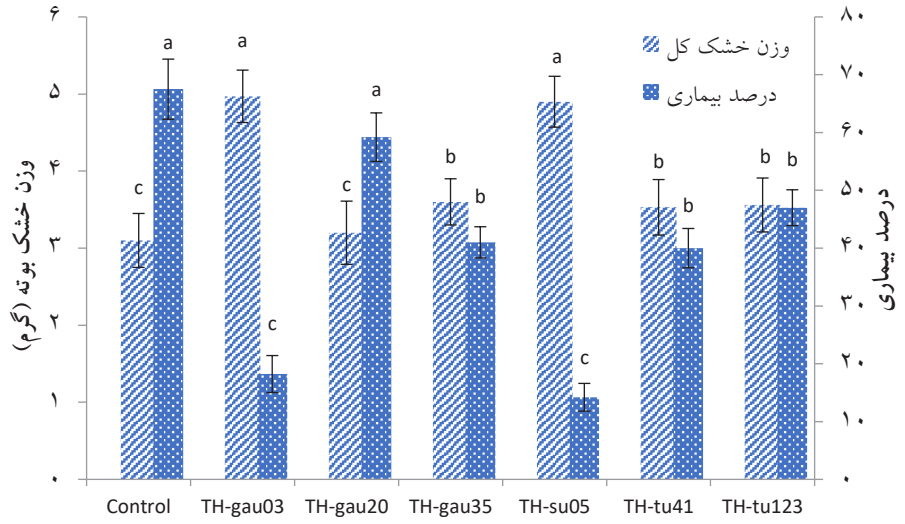
نتایج تجزیه‌وتحلیل داده‌ها نشان داد که تأثیر تیمار بذرها با جدایه‌های مختلف *T. harzianum* بر وزن خشک بوته، درصد بیماری مرگ گیاهچه، مقدار فنولِ کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشتر جدایه‌های *T. harzianum* مورد بررسی، بر وزن خشک بوته تأثیر مثبت داشتند. در این رابطه، میانگین تأثیر جدایه‌های مختلف بر افزایش وزن خشک بوته به جز جدایهٔ TH-gau20، که با شاهد اختلاف معنی‌دار نداشت به میزان ۲۲٫۸۸ درصد محاسبه شد. میانگین داده‌ها از نظر وزن خشک بوته به ترتیب در سه گروه تیمار بذر توسط جدایه‌های TH-gau03 و TH-su05 (با میانگین ٤٫٩٤ گرم) و تیمار بذر توسط سه جدایه از *T. harzianum* (با میانگین ۳٫٥٦ گرم) و گروه سوم شامل شاهد و تیمار بذر توسط جدایهٔ TH-gau20 (با میانگین ۳٫۱٥ گرم) به دست آمد (شکل ۱).

میزان بیماری مرگ گیاهچه در گیاهان مریم‌گلی در دامنه ۱٤٫۲-٦۷٫٥ درصد متغیر بود. جدایه‌های مختلف *T. harzianum*

جدول ۲- میانگین مربعات تأثیر تیمار بذر گیاه دارویی مریم‌گلی با جدایه‌های مختلف *Trichoderma harzianum* در محیط واجد یا فاقد قارچ بیمارگر *Rhizoctonia solani* بر وزن خشک بوته، درصد بیماری مرگ گیاهچه، مقدار فنولِ کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		وزن خشک بوته	درصد بیماری	فنول کل	فعالیت آنتی‌اکسیدانی
جدایهٔ *T. harzianum* و شاهد	٦	۳٫۱٤۸**	۱۷٥٤٫٦**	۱۷٤٫۳**	٤٦۱٫۲**
حضور قارچ بیمارگر	۱	۰٫۰٦۰*	۱۲۲۰٫۰**	٦۱۹٫۸**	۱٥٫٤*
جدایهٔ *T. harzianum* و شاهد×حضور قارچ بیمارگر	٦	۰٫٦٦۸**	۱۱٤٥٫۸*	۹٫۲*	۳۳٫۰*
باقیمانده	٤۲	۰٫۰۹۸	۱۲٫۷	٤٫۲	٦٫۹
C.V %		۱٤٫۰۳	۱۲٫٥۳	۹٫۱۹	۱۰٫۷٦

**: سطح احتمال یک درصد؛ *: سطح احتمال پنج درصد.



شکل ۱- مقایسهٔ میانگین درصد بیماری مرگ گیاهچه و وزن خشک (گرم) گیاه مریم‌گلی در حضور یا نبود جدایه‌های مختلف *Trichoderma harzianum* (ستون‌ها با حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ٥٪ با آزمون LSD است.)

(به جز جدایهٔ TH-gau20)، بیماری مرگ گیاهچه در گیاهان مریم‌گلی را کاهش می‌داد به طوری که میزان بیماری از ٦٧٫٥ درصد در گیاهان شاهد آلوده، به ٤٧–٤٠ و ١٨–١٤ درصد به ترتیب در گیاهان تیمار شده با TH-gau35، TH-tu41، TH-tu123 و TH-gau03 و TH-su05 کاهش می‌یافت (شکل ١). بیماری مرگ گیاهچه بر وزن خشک بوته تأثیر منفی داشته است و ارتباط دو متغیر به صورت مدل رگرسیونی $Y=0.0004209x^2-0.002X+5.09$ با ضریب تعیین ٠٫٧٩٢ ($P\leq$ ٠٫٠١) به دست آمد (شکل ٢).

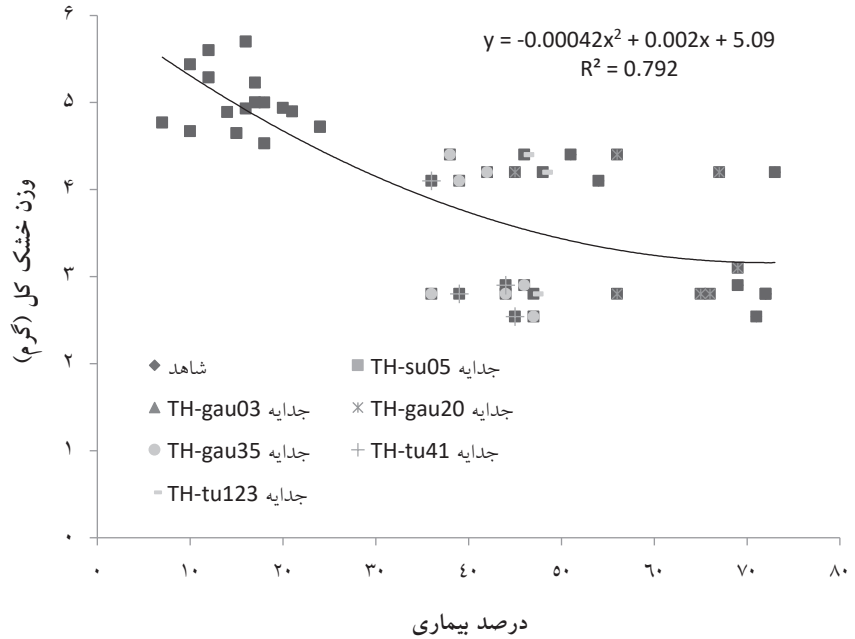
جدایه‌های مختلف *T. harzianum* و *R. solani* هر یک به تنهایی در افزایش مقدار فنول کل گیاه مؤثر بودند، اگرچه تأثیر قارچ‌های آنتاگونیست و جدایه‌های آن بر تغییر مقدار فنول کل متفاوت بوده است. بیشترین سطح فنول کل در گیاهان تیمار شده با جدایه‌های TH-gau03 و TH-su05 مشاهده شد که با افزایش حدود ٦٫٨ درصدی فنول کل نسبت به شاهد همراه بود (شکل ٣). مقدار فنول کل بر بیماری مرگ گیاهچه تأثیر منفی داشته است و ارتباط دو متغیر به‌صورت مدل رگرسیونی $Y=-0.0819x^2+3.0415X+27.414$ با ضریب تعیین ٠٫٧٠٥ ($P\leq$٠٫٠١) به دست آمد (شکل ٤).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاهان مریم‌گلی مورد مطالعه در دامنه ٤١٫٠–٢٨٫٦ درصد متغیر بود و بر اساس تغییر فعالیت آنتی‌اکسیدانی، جدایه‌های *T. harzianum* در دو گروه قرار گرفت. افزایش معنی‌دار فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان تحت تیمار جدایه‌های TH-gau03 و TH-su05 به ترتیب ٣٠٫٩٦ و ٢٩٫٢٦ درصد محاسبه شد (شکل ٣).

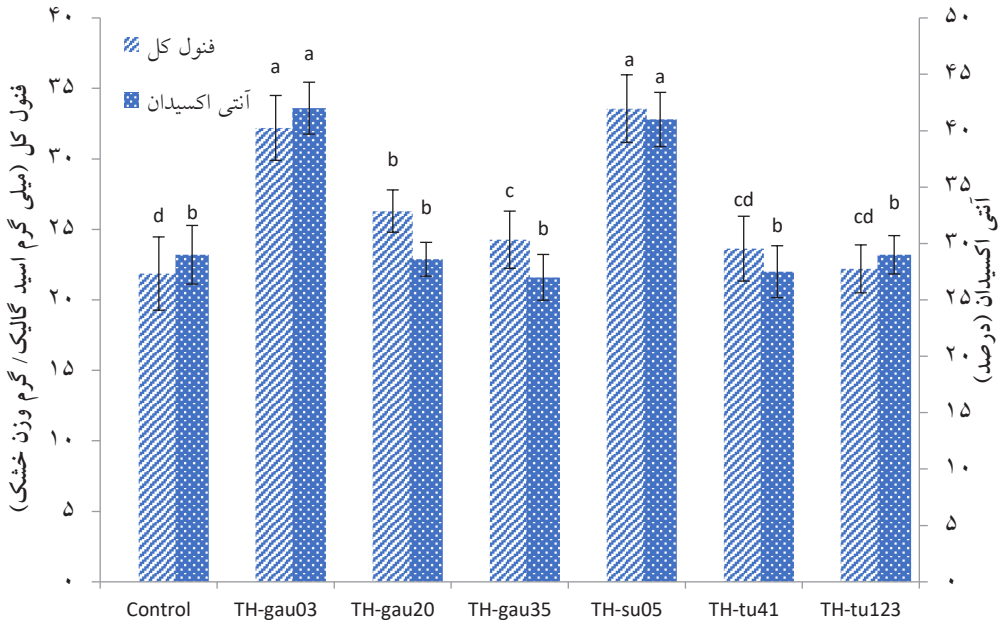
جدایه‌های مختلف *T. harzianum* با توجه به اطلاعات مربوط به صفات مورد مطالعه (تأثیر بر وزن خشک کل، افزایش ترکیبات فنول، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش شاخص آلودگی در برابر *Rhizoctonia solani*) در دو گروه معنی‌دار شامل جدایه‌های TH-gau03 و TH-su05 و بقیهٔ جدایه‌ها قرار گرفت. جدایه‌های گروه دوم در دو خوشه گروه‌بندی شد (شکل ٥).

بحث

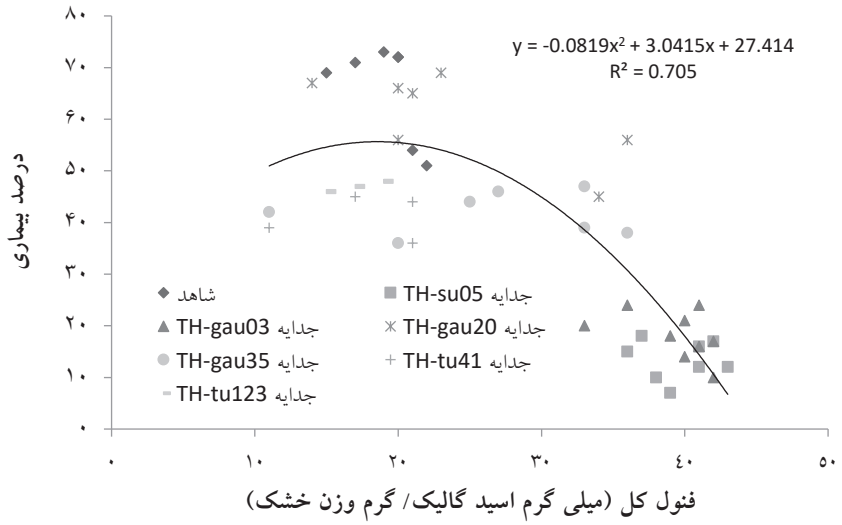
مریم‌گلی یکی از گیاهان دارویی مهم و معطر است که همانند دیگر گیاهان تیرهٔ نعناع متابولیت‌های ثانویهٔ مختلفی دارد. این ترکیبات علاوه بر ایجاد ویژگی‌های فیزیولوژیک خاص مانند رنگ و طعم، خواص زیستی متعدد مانند اثر ضدویروسی، ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی دارد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات، آسیب‌های ناشی از فعالیت رادیکال‌های آزاد ناشی از شرایط نامساعد محیطی را کاهش می‌دهد و از گیاه در برابر تنش‌های مختلف زیستی و غیرزیستی محافظت می‌کند (Reuveni *et al*., 2002). عوامل مختلف ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی



شکل ٢- مدل رگرسیونی برازش داده شده برای توصیف ارتباط بین وزن خشک (گرم) با درصد بیماری مرگ گیاهچه در گیاه مریم‌گلی در حضور یا نبود جدایه‌های مختلف *Trichoderma harzianum*



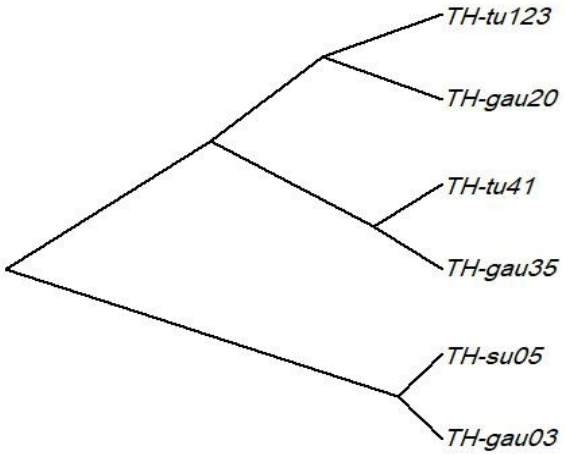
شکل ۳- مقایسهٔ میانگین فنول کل (میلی‌گرم اسید گالیک/ گرم وزن خشک) و آنتی‌اکسیدان (DPPH٪) گیاه مریم‌گلی در حضور یا نبود جدایه‌های مختلف *Trichoderma harzianum* (ستون‌ها با حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با آزمون LSD است.)



شکل ٤- مدل رگرسیونی برازش داده شده برای توصیف ارتباط فنول کل (میلی‌گرم اسید گالیک/ گرم وزن خشک) با درصد بیماری مرگ گیاهچه در گیاه مریم‌گلی در حضور یا نبود جدایه‌های مختلف *Trichoderma harzianum*

میزان تولید متابولیت‌های ثانویه در گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد. اگرچه، عوامل محیطی به‌ویژه شرایط تنش‌زا نیز قادر به تغییر کمیت و کیفیت این ترکیبات است (Harmosa *et al.*, 2012). در این رابطه، اثر کودهای مختلف آلی، عوامل مهار زیستی و آلودگی گیاه به قارچ‌ها و باکتری‌های مختلف بر تغییر کمیت و کیفیت متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی گزارش شده است (Pant *et al.*, 2021).

گونه‌های مختلف *Trichoderma* بیشتر به عنوان هم‌زیست‌های گیاهی، تنوع تغذیه‌ای و بوم‌شناختی زیادی دارد. این قارچ‌ها به طور معمول در خاک حضور دارد و با



شکل ۵- گروه‌بندی جدایه‌های مختلف *Trichoderma harzianum* بر اساس صفات مورد مطالعه (وزن خشک کل، فنول کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و درصد آلودگی در برابر *Rhizoctonia solani*) به روش UPGMA

توجه به رشد سریع به‌عنوان بهبوددهندهٔ سوخت‌وساز گیاه در سیستم‌های مختلف کشاورزی استفاده می‌شوند (Amini *et al*., 2014). قارچ‌های جنس *Trichoderma* از ریشهٔ تعداد زیادی از گیاهان جدا شده، و با افزایش جذب مواد غذایی به‌عنوان محرک رشد مورد مطالعه قرار گرفته است (Rudresh *et al*., 2005). در این رابطه، تأثیر گونه‌های مختلف *Trichoderma* بر افزایش رشد گوجه‌فرنگی (Gravel *et al*., 2007)، ریحان (Sanei and Razavi, 2018) و نخود (Dubey *et al*., 2006) گزارش شده است. در این بررسی نیز تغییر وزن خشک گیاهان مریم‌گلی تحت تأثیر اغلب جدایه‌های *T. harzianum* مشاهده شد؛ اگرچه میزان اثر هر کدام از جدایه‌ها بر این صفت، متفاوت بوده است.

گیاهان با تغییر مسیر برخی از فرآیندهای متابولیسمی از پیشرفت آلودگی ممانعت می‌کنند و مقاومت در برابر تنش را افزایش می‌دهند (Wu *et al*., 2019). در این رابطه، گونه‌های مختلف *Trichoderma* عوامل بیماری‌زا را به طور مستقیم با تغییر در میزان هورمون‌ها، افزایش ترکیب‌های ضدمیکروبی و سنتز پروتئین‌های مؤثر در برابر بیماری و به طور غیرمستقیم با تحریک مقاومت سیستمیک، تحت تأثیر قرار می‌دهند (Mastouri *et al*., 2010; Gaderer *et al*., 2015). یکی از سازوکارهای مهم در مقاومت گیاه در زمان تنش‌های زیستی، تجمع و اکسید ترکیبات فنولی و افزایش فعالیت اکسیدانی است. با توجه به تضعیف سیستم ایمنی گیاه در حین تنش‌های محیطی، افزایش ترکیبات فنولی و فعالیت اکسیدانی، واکنش‌های دفاعی مناسبی را در برابر بیمارگرها به وجود می‌آورد (Sareena *et al*., 2006). خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد و کاهش گونه‌های اکسیژن فعال از اثرهای مهم این ترکیبات به شمار می‌رود (Taheri and Tarighi, 2011). نتایج این بررسی، تأثیر جدایه‌های مختلف *T. harzianum* (به جز جدایه TH-gau20) را در تجمع ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد که با افزایش مقاومت به بیماری مرگ گیاهچه همراه بوده است. این تغییرات شیمیایی به عنوان عکس‌العمل گیاه در برابر آسیب بیمارگر با نتایج به دست آمده در رابطه با تأثیر اسید سالیسیلیک بر افزایش ترکیبات فنولی در گیاهان ریحان (Al-Sohaibani *et al*., 2011) و زیتون (Taheri *et al*., 2021) و کاهش آلودگی گیاه به ترتیب توسط *R. solani* و *Verticillium dahliae* تطابق دارد.

نتایج کلی این بررسی، تأثیر معنی‌دار برخی از جدایه‌های *T. harzianum* را در افزایش رشد و القای مقاومت گیاه مریم‌گلی نشان داد که می‌تواند به عنوان رهیافتی زیست‌فناور برای بهبود رشد گیاه و افزایش مقاومت به تنش پیشنهاد شود.

سپاس‌گزاری

با تشکر از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان که با حمایت مناسب امکان انجام این طرح تحقیقاتی را فراهم کرد. هیچ گونه تعارض منافعی توسط نویسندگان بیان نشده است.

References

Ahmad P, Ozturk M, Sharma S, Gucel S. 2014. Effect of sodium carbonate-induced salinity-alkalinity on some key smoprotectants, protein profile, antioxidant enzymes, and lipid peroxidation in two mulberry (*Morus alba* L.) cultivars. Journal of Plant Interaction 9: 460-467.

Al-Sohaibani SA, Mahmoud MA, Al-Othman MR, Ragab MM, Saber MM, Abd El- Aziz ARM. 2011. Influence of some biotic and abiotic inducers on root rot disease incidence of sweet basil. African Journal of Microbiology Research3628- :5 3639.

Amini Y, Mohammadi A, Zafari D. 2014. *Trichoderma* species associated with medicinal plants. International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research 2: 2566-2568.

Behiry S, Soliman SA, Massoud MA, Abdelbary M, Kordy AM, Abdelkhalek A, Heflish A. 2023. *Trichoderma pubescens* elicit induced systemic resistance in tomato challenged by *Rhizoctonia solani*. Journal of Fungi 9: 167.

Bienkowski D, Stewart A, Falloon RE, Braithwaite M, Loguerci LL. 2010. A disease assay for *Rhizoctonia solani* on potato (*Solanum tuberosum*). New Zealand Plant Protection 63: 133-137.

Brewer MT, Larkin RP. 2005. Efficacy of several potential biocontrol organisms against *Rhizoctonia solani* on potato. Crop Protection 24: 939-950.

Cakir E, Bağdat RB, Katircioğlu YZ, Maden S. 2017. Occurrence of root rot caused by *Phytophthora cryptogea* on common sage (*Salvia officinalis*) in Turkey. Journal of Agricultural Science and Technology 7: 401-406.

Cardile V, Russo A, Formisano C, Rigano D, Senatore F, Arnold NA. 2009. Essential oils of *Salvia bracteata* and *Salvia rubifolia* from Lebanon: chemical composition, antimicrobial activity and inhibitory effect on human melanoma cells. Journal of Ethnopharmacology 126: 265-72.

Demirci B, Hüsnü K, Baser C, Tümen G. 2005. Composition of the essential oil of *Salvia aramiensis* Rech. growing in Turkey. Flavour and Fragrance Journal 17: 23-25.

Drew BT, González-Gallegos JG, Xiang CL, Kriebel R, Drummond CP, Walker JB, Sytsma KJ. 2017. *Salvia* united: The greatest good for the greatest number. Taxon 66: 133-145.

Gaderer R, Lamdan NL, Seidl-Seiboth V. 2015. Sm2, a paralog of the *Trichoderma cerato-platanin* elicitor Sm1, is also highly important for plant protection conferred by the fungal-root interaction of *Trichoderma* with maize. BMC Microbiology 15: 2-9.

Harmosa R, Viterbo A, Chet I, Monte E. 2012. Plant beneficial effects of *Trichoderma* and its genes. Microbiology 158: 17-25.

Habibi Z, Yousefi M, Aghaie HR, Salehi P, Masoudi S, Rustaiyan A. 2008. Chemical composition of essential oil of *Salvia persepolitana* boiss. and *Salvia rhytidea* Benth. from Iran. Journal of Essential Oil Research 20: 1-3.

Ilham B, Noureddine C, Philippe G, Mohammed EG, Brahim E, Sophie A, Martine N, Muriel M. 2019. Induced Systemic Resistance (ISR) in *Arabidopsis thaliana* by *Bacillus amyloliquefaciens* and *Trichoderma harzianum* used as seed treatments. Agriculture 9: 166.

Khedher MRB, Khedher SB, Chaieb I, Tounsi S, Hammami M. 2017. Chemical composition and biological activities of *Salvia officinalis* essential oil from Tunisia. EXCLI Journal 6: 160-173.

Koochaki A, Nassiri Mahalat M, Najafi F. 2004. The agrobiodiversity of medicinal and aromatic plants in Iran. Iranian Journal of Field Crops Research 2: 208-216. (In Farsi)

Kumar A, Aggarwal A, Kaushish S. 2009. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma viride* on growth performance of *Salvia officinalis* Linn. Journal of Applied and Natural Science 1(1): 13-17.

Malencic D, Popovic M, Miladinovic J. 2007. Phenolic content and antioxidant properties of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seeds. Molecules 12: 576-581.

Mastouri F, Bjorkman T, Harman GE. 2010. Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. Phytopathology 100: 1213-1221.

Mehrabi-Koushki M, Rouhani H, Mahdikhani-Moghaddam E. 2012. Differential display of abundantly expressed genes of *Trichoderma harzianum* during colonization of tomato-germinating seeds and roots. Current Microbiology 65: 524-533.

Milat AM, Boban M, Teissedre PL, Šešelja-Perišin A, Jurić D, Skroza D, Generalić-Mekinić I, Ljubenkov I, Volarević J, Rasines-Perea Z. 2019. Effects of oxidation and browning of macerated white wine on its antioxidant and direct vasodilatory activity. Journal of Functional Foods 59: 138-147.

Nadjafi F, Mahdavi Damghani M, Tabrizi L, Nejad Ebrahimi S. 2014. Effect of biofertilizers on growth, yield and essential oil content of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.). Journal of Essential Oil Bearing Plants 17 (2): 237-250.

Özcan B, Birgul EM, Coleri A, Yolcu H, Caliskan M. 2009. *In vitro* antimicrobial and antioxidant activities of various extracts of *Salvia microstegia* (Boiss.) et. Bal. from Antakya, Turkey. Fresenius Environ Bulletin 18: 658-662.

Pant P, Pandey S, Dall'Acqua S. 2021. The influence of environmental conditions on secondary metabolites in medicinal plants: A literature review**.** Chemistry and Biodiversity 18 (11): e2100345.

Reuveni R, Raviv M, Krasnovsky A, Freiman L, Medina S, Bar A, Orion D. 2002. Compost induces protection against *Fusarium oxysporum* in sweet basil. Crop Protection 21: 583-587.

Safari Motlagh MR, Abolghasemi M. 2021. The effect of *Trichoderma* spp. isolates on some morphological traits of canola inoculated with *Sclerotinia sclerotiorum* and evaluation of their efficacy in biological control of pathogen. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences 21 (4): 217-231.

Sanei SJ, Razavi SE. 2018. Growth responses of basil (*Ocimum basilicum* L.) to *Trichoderma* spp. and its influence in control and eliciting plant defense responses against *Rhizoctonia solani*. Biological Control 8 (2): 27-38.

Sareena S, Poovannan K, Kumar KK. 2006. Biochemical responses in transgenic rice plants expressing a defence gene deployed against the sheath blight pathogen, *Rhizoctonia solani*. Current Science 91: 1529-1532.

Shabana YM, Abdalla ME, Hilal AA, AbdelAziz HM. 2016. Performance of three silicon sources in suppressing *Rhizoctonia solani* diseases on sage (*Salvia officinalis* L.) and in improving yield of plant herb and essential oil. Journal of Plant protection and Pathology 7: 555-563.

Taheri AH, Sanei SJ, Razavi SE. 2021. Salicylic acid is associated with improved growth and resistance of olives (*Olea europaea* L.) to Verticillium wilt**.** Journal of Plant Physiology and Breeding 11 (1): 75-85.

Taheri P, Tarighi S. 2011. A survey on basal resistance and riboflavin-induced defense responses of sugar beet against

Wu J, Ming Q, Zhai X, Wang S, Zhu B, Zhang Q, Xu Y, Shi S, Wang S, Zhang Q. 2019. Structure of a polysaccharide from *Trichoderma atroviride* and its promotion on tanshinones production in *Salvia miltiorrhiza* hairy roots. Carbohydrate Polymers 223: 115-125.

Zimowska B, Bielecka M, Abramczyk B, Nicoletti R. 2020. Bioactive Products from Endophytic Fungi of Sages (*Salvia* spp.). Agriculture 10: 543.

Rhizoctonia solani. Journal of Plant Physiology 168: 1114-1122.

Walker JB, Sytsma KJ, Treutlein J, Wink M. 2004. *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Mentheae. American Journal of Botany 91: 1115-1125.

Woo SL, Scala F, Ruocco M, Lorito M. 2006. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. Phytopathology 96: 181-185.