مهار گل‌جالیز *(Orobanche cernua)* روی گوجه‌فرنگی با استفاده از بنزوتیادیازول و بررسی تغییرات آنزیمی آن

فتانه قلاوند[۱]، ذبیح‌الله اعظمی ساردویی[۲*]، فرناز فکرت[۳] و مریم پاینده[٤]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱/۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۸)

چکیده

گل‌جالیز (*Orobanche* spp.) انگل مطلق ریشه گیاهان دولپه و دارای خسارت فراوان می‌باشد. بنزوتیادیازول به‌عنوان ماده محرک، پتانسیل القای مقاومت در برخی گیاهان را دارد. در این پژوهش، تأثیر غلظت‌های مختلف BTH (۱۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) در القای مقاومت در گیاه گوجه‌فرنگی در برابر گل‌جالیز *Orobanche cernua* Loefl موردمطالعه قرار گرفت. ابتدا حساسیت هفت رقم نسبت به بیمارگر ارزیابی شد. دو رقم ارلی‌اربانا و سوپرچف به ترتیب به‌عنوان متحمل‌ترین و حساس‌ترین ارقام جهت آزمایش گلخانه‌ای بعدی انتخاب شدند. نشاءها قبل از انتقال به گلدان‌های حاوی ۲۰ میلی‌گرم بذر گل جالیز، به مدت یک ساعت در غلظت‌های مختلف BTH خیسانده و همچنین ۱۵ روز بعد، مجدداً آبیاری شدند. پس از سه ماه، شاخص‌های رشدی میزبان و بیمارگر بررسی و اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که رقم متحمل و تمامی غلظت‌های BTH در مهار بیمارگر مؤثر بودند. غلظت ۱۰۰mg/l و ۵۰۰ در رقم ارلی‌اربانا مهار صددرصدی بیمارگر را دربر داشت. همچنین تغییرات فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز و پراکسیداز در زمان‌های ۲٤، ٤۸، ۷۲ و ۹٦ ساعت بعد از کاربرد BTH موردبررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج، بیشترین فعالیت آنزیمی در رقم ارلی‌اربانا در غلظت ۵۰۰ mg/l در حضور گل‌جالیز حاصل شد. درمجموع، استفاده از ترکیبات تجاری BTH به‌عنوان یک فعال‌کننده سیستم دفاعی گیاه و یک ترکیب جدید، ساده و سازگاربامحیط‌زیست می‌تواند جهت مهار گل‌جالیز در کشاورزی پایدار بکار رود.

کلیدواژه: آنزیم، کنترل، BTH، گوجه‌فرنگی، *Orobanche*

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: zabih.azami@gmail.com

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت.

۲. استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت.

۳. مربی گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت.

۴. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گیاه‌شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

Suppression of *Orobanche cernua* on tomato with Benzothiadiazole and its enzymatic changes

F. Ghalavand[1], Z. Azami-Sardooei[2*], F. Fekrat[3], and M. Payandeh[4]

(Received: 22.3.2017; Accepted: 8.1.2018)

Abstract

Benzothiadiazole (BTH) is as an elicitor with potential to induction of resistance in some plants. In this research, the effect of different concentrations of BTH (0, 10, 100, 500 mg/ l) for induction of resistance in tomato against *Orobanche cernua* Loefl was investigated. For following experiment in greenhouse condition, Early Urbana (EU) and Super Chef respectively the most tolerant and sensitive cultivars were selected. Before transplanting of tomato into contaminated pots with 20 mg broomrape seeds, the roots of plant were soaked in BTH for an hour. Also fifteen days later, the seedlings were irrigated with BTH. Growth parameters of tomato plants and pathogen were assessed 3 months later. The results demonstrated that all concentrations of BTH and tolerance variety were effective in inhibition of pathogen. The best broomrape controls were recorded by 100 percent at 100 and 500 mg/l on EU cultivar. The activity of the enzyme phenylalanine ammonia lyase (PAL) and peroxidase (POX) at 24, 48, 72 and 96 hours were estimated after irrigated plants with BTH. The results showed that there was a significant effect of the concentrations of BTH and pathogen on the activity of PAL and POX enzymes that are involved in plant defense mechanisms. The highest enzymatic activity was obtained in EU at concentration of 500 mg/l in the presence of *O. cernua*. In conclusions, the use of BTH commercial compounds as plant defense activator is a new, simple strategy to control broomrape and compatible with the environment for the sustainable agriculture.

Keywords: BTH, Control, Enzyme, *Orobanche*, Tomato

*Corresponding author's E-mail: zabih.azami@gmail.com
1. Graduated MSc. in Plant Pathology, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Iran.
2. Assistant Professors, Department of Crop Protection, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran.
3. Instructor, Department of Crop Protection, Faculty of Agriculture, University of Jiroft, Jiroft, Iran.
4. Graduated MSc. in Botany, Faculty of Sciences, Shahid-Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

مقدمه

گل‌جالیز (*Orobanche* spp.) انگل اجباری ریشه گیاهان دولپه به‌خصوص گیاهان تیره سیب‌زمینی است. بر اساس پژوهش‌های انجام‌گرفته در ایران دو گونه *Phelipanche aegyptiaca* Pers. (*Orobanche aegyptiaca* و *O. cernua*) در لیست مهم‌ترین علف‌های هرز انگل معرفی‌شده‌اند (Shimi & Termeh 2004). کنترل این بیمارگر به دلیل ارتباط مستقیم با میزبان، زندمانی طولانی‌مدت در زیرخاک و تعداد زیاد تولید بذور، بسیار مشکل می‌باشد. بنابراین یکی از مؤثرترین روش‌های کنترل آن، یافتن میزبان مقاوم و جستجوی روش‌های جدید دوستدار محیط‌زیست به‌ویژه درزمینه‌ی افزایش مقاومت گیاهان به بیمارگرها می‌باشد که از فاکتورهای کلیدی در کشاورزی پایدار است (Hadizadeh, 2012; Kusumoto *et al.*, 2007). در همین راستا ایجاد مقاومت سیستمیک اکتسابی(SAR[1]) در گیاهان با استفاده از القاکننده‌های شیمیایی که از یک‌سو سبب فعال‌سازی مکانیسم‌های دفاعی گیاه قبل از رویارویی با بیمارگر می‌شود و از سوی دیگر فاقد خطرات زیست‌محیطی باشد، در سال‌های اخیر موردتوجه محققان قرارگرفته است. اغلب این مواد شیمیایی مانند سالیسیلیک اسید و بنزوتیادیازول یک پاسخ مقاومتی مشابه SAR ایجاد می‌کنند (Lawton *et al.* 1996, Goellner *et al.* 2008). ماده بنزوتیادیازول یا BTH تحت عنوان نام‌های تجاری Bion® و Actigard® به ترتیب در اروپا و امریکا موجود و استفاده می‌شوند. BTH یک ترکیب مشابه (آنالوگ) اسیدسالیسیلیک است که می‌تواند دفاع سراسری گیاه در برابر بیمارگر را بدون تجمع اسیدسالیسیلیک و با فعال‌سازی مسیر پائین‌دست ازجمله مسیرهای سیگنالینگ در تنظیم واکنش‌های دفاعی که منجر به تجمع پروتئین‌های مرتبط با بیمارگرها و بیان ژن مسئول تولید پروتئین‌های دفاعی، تغییرات آنزیمی و غیره می‌گردد را تحریک کند (Yashimoto *et al.* 2009, Wang *et al.* 2007; Azami-Sardooei, *et al.* 2017). نقش و اثر بنزوتیادیازول به‌عنوان یک فعال‌کننده دفاع در تعدادی از گیاهان مانند گوجه‌فرنگی، لوبیا و خیار (Azami-Sardooei, *et al.* 2013) در برابر کپک خاکستری، شبدر سرخ (Kusumoto *et al.* 2007)، نخود (Pérez-de-Luque *et al.* 2004) و کلزا (Veronisi *et al.* 2009) از طریق فعال کردن مسیر SAR و درنتیجه افزایش مقاومت میزبان از طریق القای مقاومت در برابر سه گونه گل‌جالیز به ترتیب *O. ramose*, *O. crenata*, *O. minor* نشان داده‌شده است. همچنین محلول‌پاشی نشاهای گوجه‌فرنگی با غلظت ۳۰ پی پی‌ام ماده مؤثره بنزوتیادیازول کارایی مؤثری در کنترل گل جالیز داشته است (Nezamabadi *et al.* 2013). آلوده شدن گیاهان عالی به یک عامل بیماری‌زا سبب تغییر فعالیت تعدادی از آنزیم‌های اکسیدکننده و هیدرولیز کننده می‌شود (Macko *et al.* 1968, Al-Wakeel *et al.* 2013). ازآنجایی‌که فعالیت PAL و POX تحت تأثیر محرک‌ها و حمله‌ی بیمارگر به‌سرعت افزایش می‌یابد ازجمله در لوبیا چشم‌بلبلی تیمار شده با SA در پاسخ به *Rhizoctonia solani* فعالیت دو آنزیم مذکور افزایش یافت (Chandra *et al.* 2007). آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (PAL) اولین و مهم‌ترین آنزیم مسیر فنیل‌پروپانوئید می‌باشد، درنتیجه‌ی فعالیت این آنزیم، دو مسیر بیوسنتزی فعال می‌شود که یکی از آن‌ها مربوط به سنتز سالیسیلیک‌اسید است که مهم‌ترین مولکول سیگنالینگ دفاعی در گیاه محسوب می‌شود. این هورمون در مراحل آغازین مسیر فنیل‌پروپانوئید ساخته می‌شود و

1- Systemic Acquired Resistance

باعث فعال شدن مسیر SAR و القای مقاومت اکتسابی سیستمیک در گیاه می‌شود (Chen *et al.* 2009). همچنین آنزیم PAL به‌صورت غیرمستقیم در ساختن چند ترکیب فنلی، ازجمله پلیمرهای سازنده دیواره سلولی دخالت دارد (Parr & Bolwll 2000). در همین راستا و بر اساس یافته‌ها جهت پیش‌بینی القاء مقاومت، می‌توان از تغییرات فعالیت پراکسیدازها نیز به‌عنوان یک نشانگر بیوشیمیایی استفاده کرد (Reuveni 1995). پراکسیدازها (POX) گروهی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو هستند که باعث تجزیه آب‌اکسیژنه به‌وسیله اکسیداسیون یک ماده همراه می‌شوند همچنین پراکسیدازها در اکسیداسیون فنل‌ها به کینون‌ها و تشکیل لیگنین در سلول‌های گیاهی در طول حمله بیمارگرها نقش مهمی ایفا می‌کنند (Kerby & Somervill 1989, Robb *et al.* 1987). با عنایت به اینکه تاکنون اطلاعات ناچیزی در خصوص ارقام مقاوم و متحمل به گل جالیز وجود دارد (Rispail *et al.*, 2007) و همچنین پژوهش‌های محدودی در خصوص بررسی اثر BTH به‌عنوان القاکننده‌ی شیمیایی در ایجاد مقاومت گیاهان در برابر گل‌جالیز صورت گرفته است به همین منظور در این مطالعه ضمن بررسی حساسیت هفت رقم گوجه‌فرنگی به گل‌جالیز، ارقام متحمل و حساس مشخص شد. در ادامه پتانسیل BTH در مهار گل‌جالیز بر روی ریشه میزبان بررسی و همچنین تغییرات فعالیت آنزیم‌های PAL و POXجهت تعیین مسیر مکانیسم مقاومت گیاه موردتحقیق قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و شناسایی گل‌جالیز *Orobanche sp.*

به منظور بررسی تشخیص گونه این گیاه انگل، ابتدا طی بازدیدهای مکرر و به‌صورت میدانی از مزارع کشت گوجه‌فرنگی آلوده به گل جالیز در روستای خاتون‌آباد جیرفت با شرایط آب و هوایی نیمه گرمسیری و موقعیت جغرافیایی طول 30E '47 °57 و عرض 38N '25 °28 و ارتفاع ۵۵۶ متر از سطح دریا، نمونه‌برداری انجام شد و در ادامه گونه این گیاه انگل مورد شناسایی قرار گرفت.

بررسی میزان حساسیت چند رقم گوجه‌فرنگی نسبت به گل‌جالیز

بدین منظور بذر هفت رقم گوجه‌فرنگی شامل کوویین۲۲۷۴[2] (شرکت Anbari)، اسپیدی[3] (شرکت Seminis)، سان ۶۱۰۸[4] (شرکت Nunheme)، سوپرچف[5] (شرکت Bonansa)، چف[6] (شرکت Canyon)، ارلی‌اربانا[7] (شرکت P.S) به همراه رقم محلی اصفهان (شرکت پاکان اصفهان) انتخاب و از بازار تهیه شدند. ابتدا ۲۰ میلی‌گرم بذر گل‌جالیز در گلدان‌های دو کیلوگرمی محتوی مخلوط خاک استریل شامل ماسه، رس، پیت ماس و پرلایت به نسبت ۱:۱:۱:۲ در شش سانتی‌متری سطح خاک مخلوط و به مدت ۱۰ روز در شرایط گرم و مرطوب نگهداری شدند (Tokasi *et al.* 2015) و سپس یک نشاء گوجه‌فرنگی در مرحله چهار برگ حقیقی در هر گلدان کشت و در گلخانه با شرایط کنترل‌شده (دمای ۲± ۲۵ درجه سانتی‌گراد شب/روز و رطوبت نسبی ۷۰ درصد) نگهداری شد. پس از گذشت سه ماه شاخص‌های رشدی میزبان و بیمارگر ازجمله وزن خشک اندام هوایی و ریشه، ارتفاع بوته و تعداد گل گوجه‌فرنگی و نیز شاخص‌های مربوط به

[2] - Queen 2274
[3] - Speedy
[4] - Sun 6108
[5] - Super Chef
[6] - Chef
[7] - Early Urbana

گل‌جالیز مانند تعداد ساقه روییده از سطح خاک، وزن خشک (شاخساره و گرهک)، تعداد گرهک‌های ایجادشده روی ریشه میزبان در ارقام مذکور و آلوده به بذر گل‌جالیز نسبت به شاهد همان رقم در شرایط غیر آلوده محاسبه گردید.

ارزیابی زمان اتصال و نفوذ گل‌جالیز به ریشه گوجه‌فرنگی

به‌منظور تعیین زمان اتصال و نفوذ گل‌جالیز به ریشه میزبان و بهترین زمان کاربرد محلول BTH و اندازه‌گیری تغییرات آنزیمی، آزمایشی با سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. ابتدا بذرهای گل جالیز در گلدان های محتوی ۵۰۰ گرم خاک مخلوط، به مدت ۱۰ روز در دمای ۲±۲۱ نگهداری شد. سپس یک نشاء گوجه‌فرنگی در مرحله چهار برگ حقیقی در هر گلدان کشت شد. بعد از زمان‌های ۱۰، ۱۵ و ۲۰ روز پس از انتقال نشاء اندام هوایی گوجه‌فرنگی از سطح خاک قطع شد و ریشه‌ها پس از شستشو ازنظر تعداد گرهک چسبیده به آن‌ها در زیر بینوکولار مورد بررسی و شمارش قرارگرفته و تعداد گرهک‌های گل‌جالیز در سه تکرار محاسبه و مورد آنالیز آماری و مقایسه قرار داده شد.

بررسی اثر BTH بر کنترل گل‌جالیز روی ریشه گوجه‌فرنگی در شرایط گلخانه

پس از بررسی و ارزیابی میزان حساسیت هفت رقم ذکرشده در بالا دو رقم حساس (سوپرچف) و متحمل (ارلی‌اربانا) انتخاب شدند. سپس اثر بنزوتیادیازول یا BTH (Sigma Alderich) در میزان کنترل گل‌جالیز در گوجه‌فرنگی در شرایط گلخانه‌ای بررسی شد. ابتدا ریشه نشاءهای گوجه‌فرنگی هم‌ارتفاع دارای چهار برگ حقیقی قبل از انتقال نشاء به گلدان‌های اصلی به مدت یک ساعت درون محلول BTH با غلظت‌های ۱۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر و آب مقطر به‌عنوان شاهد (صفر) غوطه‌ور شدند. سپس نشاءها در گلدان‌های آلوده و غیر آلوده به بذر گل‌جالیز کشت شدند. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. پس از ۱۵ روز (قبل از زمان حداکثر حمله گل‌جالیز به ریشه میزبان) نیز یک مرحله آبیاری با غلظت‌های محلول BTH ذکرشده در بالا، صورت گرفت. پس از گذشت سه ماه شاخص‌های رشدی میزبان (وزن خشک ساقه و ریشه، وزن‌تر میوه) و بیمارگر (وزن خشک گل جالیز، تعداد ساقه خارج‌شده از خاک و تعداد گرهک چسبیده به ریشه میزبان) اندازه‌گیری شد. این بخش آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد و فاکتورها شامل رقم گوجه‌فرنگی و غلظت‌های مختلف BTH بود.

بررسی تغییرات آنزیمی گیاه گوجه‌فرنگی پس از کاربرد BTH

پس از بررسی تأثیر BTH بر کنترل گل‌جالیز، میزان تغییرات کمی آنزیم‌های فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (PAL) و پراکسیداز (POX) که به ترتیب در بندهای پایین شرح داده‌شده در زمان‌های ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از آبیاری بوته‌ها با محلول BTH، اندازه‌گیری و موردبررسی قرار گرفت. ابتدا ریشه‌ها با آب شستشو شده و بلافاصله در نیتروژن مایع قرار گرفتند و پس‌ازآن در فریزر در دمای ۲۰- تا زمان ارزیابی تغییرات آنزیمی نگهداری شدند (Mohammadi & Kazemi 2002).

ارزیابی میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (PAL)

ابتدا نیم گرم از بافت ریشه تازه در هاون چینی با ازت مایع تا یکنواخت شدن کامل ساییده شد. سپس با استفاده

از بافر استخراجی (۵۰ میلی‌مولار Tris- HCl با pH=۸/۹، پنج میلی‌مولار EDTA و پنج میلی‌مولار اسید آسکوربیک) همگن شدند. سپس نمونه‌ها در دور g*۱۲۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس سانتریفیوژ شده و بخش رویی برای سنجش آنزیم در فریزر دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. محتوی نمونه برای سنجش آنزیم ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۰/۹ میلی‌لیتر محلول سوبسترا (۱۶ میلی‌مولار L-phenylalanine، ۵۰ میلی‌مولار Tris- HCl با pH=۸/۹، ۳/۶ میلی‌مولار NaCl) در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۶۰ دقیقه انکوبه شد و بعدازاین مدت با افزودن ۵۰۰ میکرولیتر HCl ۶ نرمال واکنش متوقف شد. فعالیت آنزیم بر اساس میزان t-سینامیک‌اسید تشکیل‌شده در مدت یک دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین در طول‌موج ۲۹۰ نانومتر در مقابل بلانک (بدون عصاره) ارزیابی شد (Solecka & Kacperska 2003).

ارزیابی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX)

ارزیابی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس روش ارائه‌شده توسط کار و میشرا (Kar & Mishra 1976) انجام شد. ابتدا نیم گرم ریشه تازه گیاه گوجه‌فرنگی همراه با ازت مایع و یک میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات (۰/۱ مولار با pH=۷) در هاون همگن شدند. سپس در دور g*۱۰۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس سانتریفیوژ شده و بخش رویی برای سنجش آنزیم در فریزر در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد. در مرحله بعد، مخلوط واکنش شامل ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی و ۱۰ میلی‌لیتر از محلول سنجش (۴۰ میلی‌مولار فسفات پتاسیم با pH=۷/۲، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، پنج میلی‌مولار گایاکول) در یک لوله‌آزمایش کاملاً مخلوط شده و دستگاه اسپکتروفتومتر با استفاده از این مخلوط صفر گردید. در ادامه بلافاصله به مخلوط واکنش (ذکرشده در بالا) ۰/۳ میلی‌مولار H_2O_2 اضافه و سریع مخلوط نموده و بلافاصله تغییرات جذب نور در طول‌موج ۴۷۰ nm، به مدت یک دقیقه با فواصل زمانی ۱۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. برای محاسبه فعالیت اختصاصی آنزیم‌های مورد آزمون و تعمیم فعالیت آنزیم‌ها به میلی‌گرم پروتئین موجود در بافت، میزان پروتئین کل موجود در نمونه‌ها به روش برادفورد محاسبه و تعیین شد (Bradford 1976).

آزمایش‌های بخش آنزیمی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. فاکتورها شامل رقم گوجه‌فرنگی، غلظت BTH و حضور و عدم حضور گل جالیز بود.

در تمامی آزمایش‌ها رسم نمودارها با نرم‌افزار اکسل Excel و تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

شناسایی و مشخصات گیاه‌شناسی گونه گل‌جالیز *Orobanche cernua* در منطقه جیرفت

این گیاه انگل ازنظر مورفولوژی دارای بوته های غیر منشعب در سطح زمین و یا ندرتاً منشعب در پایین، ساقه افراشته، غیر منشعب، ضخیم، زردرنگ، با حداکثر ۴۰ سانتی‌متر ارتفاع است (شکل ۱-A). برگ‌ها به‌صورت فلس‌های مثلثی بی‌رنگ روی ساقه، گل‌آذین سنبله متراکم با برگ‌هایی که گل‌ها را فراگرفته و گل‌ها با جام لوله‌ای (۲۰ میلی‌متر طول)، فشرده در بالای میوه‌ها، دارای دو لوب (کوچک و گرد) (شکل ۱-C)، گل‌ها آبی ولی لوله

جدول ۱. درصد کاهش شاخص‌های رشدی هفت رقم گوجه‌فرنگی در حالت غیر آلوده و آلوده به ***Orobanche cernua***

Table 1. Percent decrease of growth parameters of seven tomato cultivars in case of uninfected and infected by *Orobanche cernua*

Tomato cultivars	% of No. of flower reduction	% Shoot height reduction (cm)	% of Root dry weight reduction (gr)	% of Shoot dry weight reduction (gr)
Queen 2274	35.34 a	13.68 a	39.40 b	31.90 b
Speedy	63.83 c	38.96 d	82.14 e	42.66 c
Super Chef	83.05 d	61.40 f	88.61 f	74.61 e
Chef	53.49 b	21.86 b	72.16 d	30.00 b
Isfahan-native	60.00 c	30.38 c	64.79 c	41.76 c
Sun 6108	65.30 c	45.35 e	84.84 ef	55.53 d
Early Urbana	31.81 a	12.85 a	34.29 a	23.81 a

داده‌ها میانگین سه تکرار و حروف غیرمشترک نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد آزمون دانکن است

Data are means of three replication and different letters are significantly different according to the Duncan test ($p<0.01$).

شکل ۱. مطالعه مشخصات مرفولوژی گل‌جالیز. A: ارتفاع ساقه از سطح خاک، B: مشخصات ظاهری گل، C: محل اتصال پرچم‌ها (تصاویر اصلی)

Figure 1. Morphometric study of broomrape. A: Stem height at the soil surface B: characteristic of the flower C: Point of connection of stamens. (Original picture)

گل سفید به طول یک تا دو سانتی متر (شکل ۱-B)، پرچم ها متصل به بالای لوله (محل اتصال پرچم ها به جام گل می‌تواند شاخص مناسبی برای تشخیص این‌گونه باشد که حداقل چهار میلی متر تا پایین فاصله دارد) (شکل ۱-C)، کاسه گل حدود نصف جام گل و برگک با طولی برابر کاسه است (شکل ۱-B) (Shimi & Termeh 2007). لازم به یادآوری است که گونه مذکور با کد هرباریومی ۱۸۳۱ در بخش گیاه‌شناسی دانشگاه شهید باهنر کرمان ثبت‌شده است.

بررسی میزان حساسیت ارقام گوجه‌فرنگی به گل جالیز

به‌منظور ارزیابی حساسیت ارقام، درصد کاهش هر یک از صفات مورد ارزیابی ارقام گوجه‌فرنگی آلوده و غیر آلوده به گل جالیز محاسبه گردید. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که رقم سوپرچف در حضور گل جالیز نسبت به شاهد غیر آلوده خود، با کاهش ۷۴/۶۱٪ وزن خشک اندام هوایی، ۸۸/۶۱٪ وزن خشک‌ریشه، ۶۱/۴۰٪ ارتفاع بوته و ۸۳/۰۵٪ تعداد گل، بیشترین درصد کاهش شاخص‌های مذکور را در بین هفت رقم داشته است. در مقابل شاخص‌های رشدی رقم ارلی‌اربانا تغییرات کاهشی کمتری نشان داد به‌طوری‌که وزن خشک اندام هوایی ۲۳/۸۱٪، وزن خشک‌ریشه ۳۴/۲۹٪، ارتفاع بوته ۱۲/۸۵٪و تعداد گل ۳۱/۸۱٪ نسبت به سایر ارقام از تحمل بیشتری برخوردار بود (جدول ۱). با عنایت به نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه، رقم سوپرچف و ارلی‌اربانا به ترتیب به‌عنوان حساس‌ترین و متحمل‌ترین ارقام مشخص و در آزمایش‌های بعدی مورداستفاده قرار گرفتند.

لذا می‌توان نتیجه گرفت که بسته به رقم گوجه‌فرنگی میزان خسارت گل جالیز متفاوت است و در همین راستا،

جدول ۲. مقایسه میانگین وزن خشک، تعداد ساقه و گرهک‌های گل جالیز روی ریشه ارقام مختلف گوجه‌فرنگی

Table 2. The mean comparison of dry weight, numbers of shoot and nodes of broomrape on the roots of different tomato cultivars.

Tomato Cultivars	No. of Broomrape Node	No. of shoot emerged from soil	Dry Weight (gr) of *Orobanche*
Queen 2274	40.50 d	2.51 f	5.49 f
Speedy	48.66 c	8.65 c	15.47 c
Super Chef	52.00 b	16.00 a	25.18 a
Chef	40.00 d	5.32 e	11.20 d
Isfahan-native	36.33 e	6.00 d	9.77 e
Sun 6108	63.65 a	10.33 b	19.69 b
Early Urbana	18.33 f	1.31g	2.13 g

داده‌ها میانگین سه تکرار و حروف غیرمشترک نشان‌دهنده معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد آزمون دانکن است

Datas are means of three replication and different letters are significantly different according to the *Duncan test* ($p<0.01$).

گزارش‌های متعددی از مقاومت ارقام مختلف گوجه‌فرنگی در برابر گل‌جالیز منتشرشده است (Mariam & Suwanketnikom, 2004; Dor *et al.*, 2010). هادی‌زاده و همکاران گزارش کردند ارقام متحمل دارای مقاومت نسبی به گل جالیز هستند و اجازه رشد اندام‌های مکنده را به آن نداده و با کاهش تراکم گل جالیز عملکرد محصول تا حدودی بهبود یافت (Hadizadeh, 2012). اما در گزارش‌های دیگر، گل‌جالیز مصری باعث کاهش ارتفاع و وزن خشک‌ریشه و ساقه گوجه‌فرنگی (Eizenberg *et al.*, 2007) به‌ویژه در ارقام حساس می‌شود (Dor *et al.*, 2010; Tokasi *et al.*, 2014; Meighani *et al.*, 2009). در بررسی اثر گل جالیز گونه *O. cernua* بر گیاه آفتابگردان، وزن خشک ساقه و تعداد برگ‌های گیاهان آلوده کمتر از تیمار شاهد غیر آلوده به گل جالیز بود (Castegon-Munoz *et al.*, 1993). همچنان *O. crenata* باعث کاهش وزن خشک‌ریشه و ساقه گوجه‌فرنگی شده است (Thalouran *et al.*, 2006).

اندازه‌گیری شاخص‌های مربوط به بیمارگر

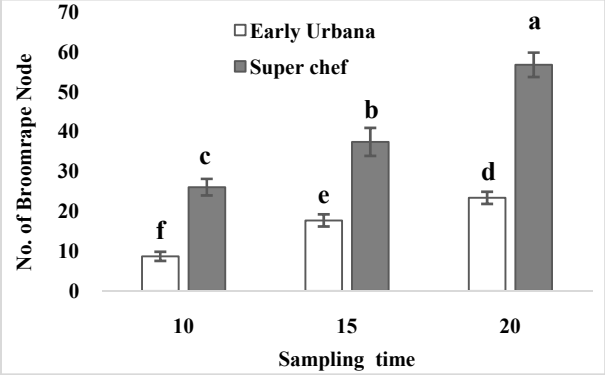
نتایج مقایسه میانگین نشان داد کمترین میانگین وزن خشک گیاهچه‌های گل جالیز (۲/۱۳ گرم)، تعداد ۱/۳۳ عدد ساقه بیرون آمده از خاک و ۱۸/۳۳ عدد گرهک تشکیل‌شده روی ریشه رقم گوجه‌فرنگی ارلی‌اربانا مشاهده شد. اما رقم سوپرچف با بیشترین وزن خشک گیاهچه‌های گل جالیز (۲۵/۱۱ گرم)، تعداد ۱۶ عدد ساقه بیرون آمده از سطح خاک و ۵۲ عدد گرهک، حساس‌ترین رقم در بین ارقام ذکرشده بود (جدول ۲). بنابراین با توجه به شاخص‌های ارزیابی‌شده در میزبان و انگل، ارقام سوپرچف و ارلی‌اربانا به ترتیب حساس‌ترین و متحمل‌ترین رقم مشخص شدند.

در ادامه بحث، روشن است ارقامی مانند سوپرچف (به‌عنوان حساس‌ترین رقم) که گل جالیز تعداد ساقه فراوان‌تری روی آن تولید می‌کند، مواد غذایی بیشتری در اختیار بیمارگر قرار می‌دهند و رابطه میزبان–انگل بیشتر به سود انگل می‌انجامد (Tokasi *et al.* 2015). شایان‌ذکر است که تحمل گیاه میزبان به گیاه انگل در سه مرحله اتفاق می‌افتد که شامل زمان جوانه‌زنی بذر گل جالیز، ظهور شاخساره و ظهور شاخه‌های گل دهنده گل جالیز می‌باشد (Goldwasser *et al.*, 2000). در همین راستا طی یک بررسی دیگر، ظهور اولین ساقه گل جالیز از سطح خاک به ترتیب، در رقم سوپرچف ۳۴ روز، سان ۴۱،

کویین ۵۲ و ارلی‌اربانا ۶۶ روز بعد از انتقال نشا مشاهده گردید (داده‌ها نشان داده نشدند). بنابراین تأخیر در توسعه و ظهور شاخساره گل جالیز می‌تواند به‌عنوان یک برتری رقابتی در گیاه میزبان نسبت به گیاه انگل در نظر گرفته شود که ممکن است ناشی از مقاومت ژنتیکی باشد. در برخی منابع بیان‌شده است که تعداد ساقه گل جالیز روی هر بوته گیاه میزبان به‌عنوان بهترین شاخص برای تعیین میزان تحمل یا حساسیت ارقام می‌باشند (Dor *et al.*, 2010). از طرف دیگر اندام‌های زیرزمینی گل جالیز به‌عنوان یک مخزن قوی برای جمع شدن مواد غذایی میزبان می‌باشند، بنابراین هر چه تعداد و اندازه توبرکول یا گرهک گل جالیز متصل به ریشه میزبان بیشتر باشد، گیاه انگل قادر است خسارت بیشتری را به گیاه میزبان وارد کرده و آن را ضعیف‌تر کند (Joel *et al.*, 2007). در مطالعه حاضر اندازه توبرکول‌های متصل به ریشه رقم سوپرچف بزرگ‌تر و بیشتر بود، لذا ارتباط موفق آوندی و طی کردن مراحل تکاملی رشد پاتوژن، می‌تواند مهم‌ترین دلیل کاهش شاخص‌های رشدی میزبان خود باشد (Tokasi *et al.* 2015).

ارزیابی و تعیین زمان اتصال و نفوذ گل‌جالیز *Orobanche cernua* به ریشه گوجه‌فرنگی

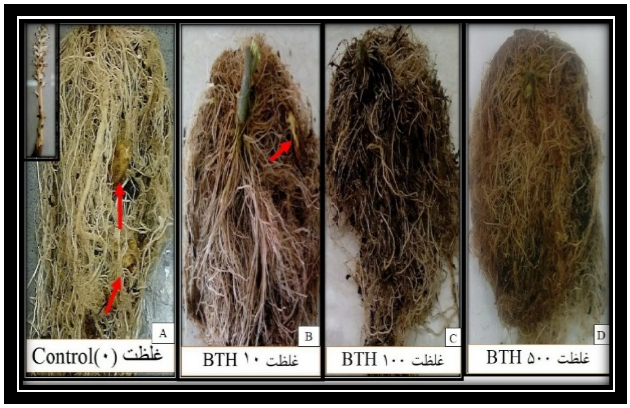
این آزمایش به‌منظور تعیین زمان ابتدای آغاز حمله گل جالیز، واکنش متقابل گیاه میزبان و رخداد مقاومت القایی و اندازه‌گیری تغییرات آنزیمی مرتبط پس از تیمار با بنزوتیادیازول صورت گرفت. در همین راستا گیاهچه‌های دو رقم انتخابی گوجه‌فرنگی ذکرشده در بالا طی زمان‌های ۱۰، ۱۵ و ۲۰ روز پس از انتقال نشاء به گلدان‌های آلوده به بذر گل‌جالیز برداشت شدند و تعداد گرهک‌های روی ریشه آن‌ها مورد شمارش قرار گرفت. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، میانگین تعداد گرهک‌های گل جالیز چسبیده



شکل ۲. میانگین تعداد گرهک‌های چسبیده به ریشه رقم‌های متحمل (ارلی‌اربانا) و حساس (سوپرچف) گوجه‌فرنگی آلوده به گل‌جالیز. ستون‌ها با حروف غیرمشابه داری اختلاف معنی‌دار در سطح $p<0.05$ می‌باشند.

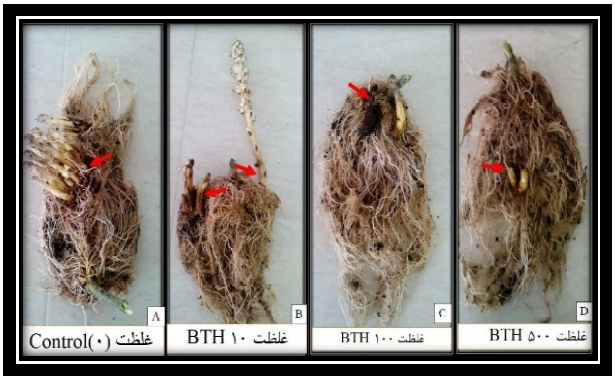
Figure 2. The average numbers of nodules were connected to the tomato roots of tolerant cultivar (Early Urbana) and susceptible cultivar (Super Chef) infected by broomrape. Bars with different letters are significantly different at p<0.05.

به ریشه رقم‌های متحمل (ارلی‌اربانا) و حساس (سوپرچف) گوجه‌فرنگی در سطح $p<0.05$ داری اختلاف معنی‌دار بودند. بطوریکه میانگین تعداد گرهک متصل شده به ریشه در زمان ده روز در سوپرچف نه عدد و در رقم ارلی‌اربانا ۲۶ عدد بود (شکل ۲). با عنایت به یافته‌های دیگر پژوهشگران زمان چسبندگی انگل به ریشه میزبان متفاوت به نظر می‌رسد به‌عنوان‌مثال گل‌جالیز گونه *Phelipanche aegyptiaca* حدود ۱۴ تا ۱۸ روز پس از کشت شروع به اتصال و نفوذ به گیاه گوجه‌فرنگی نموده و تا ۳۵ الی ۵۶ روز بعد ادامه یافته و سپس ساقه های آن ظاهر شد (Eizenberg *et al.* 2007). نکته قابل‌توجه اینکه، در این پژوهش به‌روشنی مشخص شد که نوع رقم و حساسیت آن، در میزان حمله پاتوژن مؤثر است بطوریکه تعداد گرهک‌های روی ریشه رقم سوپرچف (حساس) به‌طور معنی‌داری در تمامی زمان‌های ارزیابی‌شده بالاتر از رقم ارلی‌اربانا (متحمل) بود (شکل ۲). معمولاً میزان



شکل ۳. تأثیر غلظت‌های مختلف BTH در کنترل گل‌جالیز روی ریشه گوجه‌فرنگی رقم متحمل ارلی‌اربانا. فلش‌ها محل اتصال گرهک و آلودگی ریشه به گل‌جالیز را نشان می‌دهند. (تصاویر اصلی)

Figure 3. Effect of different concentrations of BTH to control of broomrape on tolerant tomato roots (Early Urbana). The arrow was shown broomrape tubercles on infected tomato roots. (Original picture)



شکل ٤. تأثیر غلظت‌های مختلف BTH در کنترل گل‌جالیز *Orobanche cernua* روی ریشه گوجه‌فرنگی رقم حساس سوپرچف. فلش‌ها محل گرهک و آلودگی ریشه به گل‌جالیز را نشان می‌دهند. (تصاویر اصلی)

Figure 4. Effect of different concentrations of BTH to control of *Orobanche cernua* on susceptible tomato roots (Super Chef). The arrow was shown broomrape tubercles on infected tomato roots. (Original pictures)

تغییرات آنزیمی با حمله پاتوژن به میزبان، افزایش می‌یابد لذا جهت اطمینان از ارتباط پاتوژن و میزبان (با توجه به شکل ۲)، زمان ۱۵ روز به‌عنوان زمان مناسب کاربرد بنزوتیادیازول و اندازه‌گیری کمی تغییرات آنزیم‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج ارزیابی شاخص‌های رشدی گل‌جالیز در واکنش به رقم گوجه‌فرنگی و غلظت‌های بنزوتیادیازول

به‌منظور مطالعه اثر کنترل‌کنندگی BTH در مهار و جلوگیری از توسعه گل جالیز بر روی دو رقم گوجه فرنگی سوپرچف (حساس) و ارلی اربانا (متحمل) ۸۰ روز پس از انتقال نشاء (حدود سه ماه پس از کاشت بذر) و تیمار گیاهان با غلظت‌های مختلف BTH شاخص‌های رشدی مربوط به میزبان و بیمارگر اندازه‌گیری شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل رقم گوجه‌فرنگی و غلظت‌های مختلف BTH برشاخص‌های رشدی گل‌جالیز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول تجزیه واریانس نشان داده نشد). مقایسه میانگین‌ها بین دو رقم گوجه‌فرنگی تیمار شده با غلظت‌های مختلف BTH نشان داد که میزان اتصال، نفوذ و تشکیل گرهک گل‌جالیز و درنتیجه ساقه‌های روییده از سطح خاک و وزن خشک گل‌جالیز در رقم ارلی‌اربانا تیمار شده با غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزوتیادیازول صفر ارزیابی شد. لذا در این تیمارها، گل جالیز صد درصد مهار شد (شکل C و D ۳). در مقابل کمترین میزان کنترل‌کنندگی مربوط به رقم گوجه‌فرنگی سوپرچف بدون تیمار با BTH یا تیمار شاهد بود (شکل۴) به‌طوری‌که میانگین وزن خشک گل‌جالیز ۳۴/۹۰ گرم، تعداد ساقه بیرون آمده از سطح خاک ۵/۶۷ و تعداد گرهک ۸ عدد محاسبه شد. همچنین کاربرد BTH با غلظت ۵۰۰ mg/l در رقم سوپرچف که بر طبق ارزیابی اولیه رقمی حساس به شمار می‌آید، میانگین وزن خشک گل‌جالیز (۰/۴۶ گرم) و همچنین تعداد گرهک و ساقه

جدول ۳. مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی گل جالیز *Orobanche cernua* در واکنش به رقم گوجه‌فرنگی و کاربرد غلظت‌های مختلف بنزوتیادیازول

Table 3. Mean comparison of growth parameter of *Orobanche cernua* in response to tomato varieties and different concentration of Benzothiadiazole

Treatment	Growth parameter of Broomrape					
	Early Urbana			Super Cheef		
	Broomrape dry matter	No. of broomrape node**	No. of broomrape stem*	Broomrape dry matter	No. of broomrape node**	No. of broomrape stem*
Control	2.04 d	2.66c	0.67 de	34.90 a	8 a	5.67 a
10 mg/l BTH	0.78 e	1.33 d	0 e	22.53 b	4.66 b	2.66 b
100 mg/l BTH	0 e	0 e	0 e	3.99 c	2 cd	1.67 c
500 mg/l BTH	0 e	0 e	0 e	0.46 e	1 de	1 cd

حروف غیرمشابه داری اختلاف معنی‌دار در سطح $p<0.01$ می‌باشند (آزمون چند دامنه‌ای دانکن) *نشان‌دهنده تعداد ساقه‌های خارج‌شده از سطح خاک است و ** تعداد گرهک تشکیل‌شده روی ریشه میزبان است.

Different letters are significantly different at $p<0.01$ according to Duncan,s Multiple Range Test. * Means No. of stem emerged from soil and ** No. of node produced on the host roots.

خارج‌شده از خاک (۱ عدد) به دست آمد که نسبت به رقم متحمل ارلی‌اربانا تیمار شده با غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزوتیادیازول در ارزیابی شاخص‌های مذکور اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۳).

با توجه به اینکه BTH اثرات بازدارندگی مستقیم بر جوانه‌زنی بذر گل‌جالیز، رشد ساقه‌چه، تحریک القای مقاومت در گیاه و درنتیجه وادار کردن گیاه به افزایش پوسیدگی و خشک شدن توبرکول درحال‌توسعه انگل را دارا می‌باشد (Veronesi *et al.* 2009)، این احتمال وجود دارد که خیساندن ریشه‌ها در محلول‌های BTH و آبیاری با محلول آن در زمان حمله گل‌جالیز باعث کاهش تعداد گرهک‌های گل‌جالیز روی ریشه گوجه‌فرنگی و درنهایت کاهش میزان خسارت شده است. عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین وزن خشک گل‌جالیز و تعداد ساقه خارج‌شده از سطح خاک در رقم متحمل ارلی‌اربانا با غلظت کم BTH و رقم حساس با غلظت زیاد آن نشان‌دهنده این است که در مبارزه تلفیقی گل جالیز، استفاده از رقم متحمل به همراه غلظت پایین BTH در کنترل بیمارگر فوق مفید و مؤثر است. به‌عبارت‌دیگر تحمل رقم گیاه میزبان همراه با ایجاد مقاومت القایی توسط BTH در غلظت پایین و درنتیجه کاهش دز استفاده‌شده از این ماده در میزان مصرف آن بسیار مؤثر است که در بخش استفاده از ترکیب تجاری و کاهش هزینه‌ها بسیار مفید می‌باشد. در حقیقت جلوگیری و تأخیر در ظهور شاخسارهای گل جالیز (تأثیر رقم با فعال‌کننده‌های مقاومت القایی به‌تنهایی یا باهم) نشانه برتری رقابتی میزبان در مقابل بیمارگر می‌باشد (Tokasi *et al.* 2015) که نشان‌دهنده اثر متقابل رقم و غلظت BTH در افزایش مقاومت میزبان دارد. اما باید به این نکته مهم هم توجه داشت که واکنش گیاهان مختلف نسبت به افزایش غلظت BTH متفاوت بوده و اغلب قبل از کنترل پاتوژن خود گیاه دچار صدمه و سوزندگی می‌شود (Azami-Sardooei *et al.* 2013). ازآنجایی‌که در گیاه گوجه‌فرنگی، تاکنون گزارشی پیرامون ایجاد مسمومیت و یا سوزندگی در گیاه به‌وسیله غلظت‌های بنزوتیادیازول بیش از ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌صورت خیساندن ریشه، اسپری برگ و یا کاربرد در خاک وجود ندارد (Azami-

جدول ٤. مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی آلوده و غیر آلوده به گل جالیز در کاربرد ارقام متفاوت و غلظت‌های مختلف بنزوتیادیازول

Table 4. Mean comparison of growth parameter of infected and non-infected tomato by broomrape in different varieties and application of Benzothiadiazole at different concentrations

Treatment	Growth Parameter of Tomato							
	Early Urbana				Super Cheef			
	Height (cm)	Shoot dry weight (gr)	Fruit wet weight (gr)	Root dry weight (gr)	Height (cm)	Shoot dry weight (gr)	Fruit wet weight (gr)	Root dry weight (gr)
Control (+O)	78.6 efg	55.3 h	68.8 fg	10.7 gh	54.6 fg	31.6 i	2.8 h	4.94 h
Control(-O)	87.67 cde	70.6 fgh	79.39 defg	14.33 fgh	75.3 fg	56.8 gh	77.3 defg	11.51 gh
10 mg/l BTH +O	81.3 def	68.5 fgh	90.3 bcdef	17.27 efgh	69.3 g	59.4 gh	36.1 gh	10.72 gh
10 mg/l BTH -O	90 cd	80.8 def	95.09 bcdef	26.9 defg	79 efg	69.2 fgh	86.2 cdefg	19.41 efgh
100 mg/l BTH +O	94.3 c	89.6 bcd	121.9 abcde	32.77 cde	82 def	72.6 efg	70.6 efg	19.51 efgh
100 mg/l BTH -O	97.6 bc	93.9 bcd	126.40 abcd	37.35 cd	89.6 cd	87.9 cde	120. 6 abcde	29.70 def
500 mg/l BTH + O	110 a	105.4 ab	135 abc	65.26 ab	96.1 bc	87.3 cde	113 abcdef	50 c
500 mg/l BTH -O	112.6 a	110.5 a	150.34 a	89.34 a	106 ab	98.6 abc	137. 9 ab	72.02 b

حروف غیرمشابه داری اختلاف معنی‌دار در سطح $p<0.01$ می‌باشند (آزمون چند دامنه‌ای دانکن).منظور از + و – O دارای و فاقد *Orobanche* است.

Within each column,data followed by the same letter are not significantly different according to Duncan,s multiple range test. (P<0.01). O +& - means with and without *Orobanche* .

(Sardooei *et al.* 2013, Kusumoto *et al.* 2007) امکان حفاظت از این گیاه با استفاده از BTH در برابر عوامل بیماری‌زای گیاهی مانند گل‌جالیز در گوجه‌فرنگی منطقی به نظر می‌رسد.

تأثیر غلظت‌های مختلف BTH بر شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی

نتایج مقایسه میانگین داده‌های شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی نشان داد اثر غلظت‌های مختلف BTH و رقم در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. بیشترین وزن خشک‌ریشه، اندام هوایی، وزن‌تر میوه و ارتفاع ساقه در تیمار ۵۰۰ mg/l بنزوتیادیازول به همراه کاربرد رقم ارلی‌اربانا با میانگین وزن خشک ساقه (۱۰۵/۴ گرم)، وزن‌خشک‌ریشه (۶۵/۳ گرم) وزن‌تر میوه (۱۳۵ گرم) و ارتفاع ۱۱۰ سانتی‌متر ارزیابی شد درحالی‌که کمترین میانگین شاخص‌های مذکور در رقم سوپرچف غلظت صفر شاهد (تیمار نشده با BTH) با میانگین وزن خشک ساقه (۳۱/۶ گرم)، ریشه (۴/۹۴ گرم)، وزن‌تر میوه (۲/۷۶ گرم) و ارتفاع ۵۴/۶ سانتی‌متر به دست آمد. لذا مشخص شد که کاربرد بالای غلظت بنزوتیادیازول و رقم متحمل (ارلی‌اربانا) بهترین کنترل‌کنندگی گل جالیز و درنتیجه بهترین افزایش رشد را داشته است. حتی کاربرد BTH در غلظت بالا در کاهش خسارت گل‌جالیز بر روی رقم حساس (سوپرچف) بسیار مؤثر بود به‌طوری‌که شاخص‌های رشدی در برخی سطوح نسبت به رقم متحمل ارلی‌اربانا اختلاف معنی‌داری نشان نداد. به‌عنوان‌مثال تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر BTH در رقم سوپرچف در وزن‌خشک ساقه ۸۷/۳ گرم و ارتفاع ۹۶ سانتی‌متر اختلاف معنی‌داری با تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر BTH در رقم ارلی‌اربانا با وزن‌خشک ساقه ۸۹/۶ گرم و ارتفاع ۹۴ سانتی‌متر مشاهده نشد (جدول ۴).

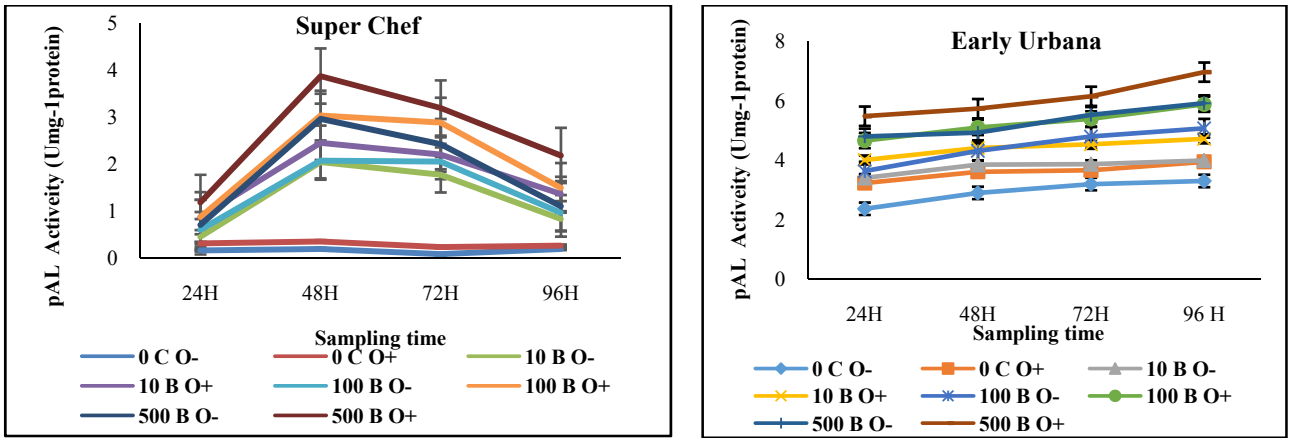
به‌طورکلی مطالعه پیش رو نشان داد، کاهش اتصال و

عدم توسعه گل‌جالیز درروی ریشه میزبان رقم متحمل و تیمار شده با BTH باعث افزایش وزن‌تر میوه، وزن خشک‌ریشه و اندام هوایی و ارتفاع بوته‌های گوجه‌فرنگی گردید. از طرف دیگر، در همه گیاهان تیمار شده با بنزودیاتیازول در شرایط غیر آلوده به گل جالیز نسبت به حالت آلوده به این پاتوژن، شاخص رشدی گیاه افزایش یافت هرچند در اکثر موارد اختلاف معنی‌داری با تیمار میزبان آلوده به گل جالیز مشاهده نشد. در توجیه این موضوع می‌توان به تأثیر سالسیلیک اسید و ترکیبات فنولیک ساده که از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های داخلی رشد گیاه محسوب می‌شوند اشاره نمود که علاوه براثر در پاسخ‌های دفاعی و فیزیولوژیکی گیاه، بر توسعه و رشد گیاه نیز مؤثر می‌باشند (Lu, 2009; Vlot *et al.*, 2009 and Vicent and Plasencia, 2011). همچنین رقابت بر سر مواد غذایی بین گوجه‌فرنگی و گل‌جالیز متصل شده به ریشه می‌تواند باعث محدود شدن رشد میزبان شود (Aalders & Pieters 1987). در تحقیق حاضر تیمار گیاه با BTH در غلظت‌های (۱۰ mg/l، ۱۰۰ و ۵۰۰) به‌روشنی باعث حفاظت گوجه‌فرنگی در برابر حمله گل‌جالیز (*O. cernua*) شد. با عنایت به پژوهش‌های انجام‌شده تاکنون، غلظت‌های ذکرشده بنزوتیادیازول در این تحقیق، اغلب به‌عنوان غلظت‌های القاکننده مقاومت علیه پاتوژن‌های مختلف گزارش‌شده‌اند (Abdel-monaim *et al.* 2011, Abo-Elyousr & El-Hendawy 2008, Sauerborn *et al.* 2002, Elmer 2006). طبق اظهارات ورسونی و همکاران کاربرد اسی بنزولار-S-متیل (ASM[8]) در کلزا باعث کنترل ۷۰ درصدی گل‌جالیز گونه *O. ramosa* شده است (Veronesi *et al.* 2009). ساربورن و همکاران گزارش کردند خیساندن دانه‌های آفتابگردان در محلول BTH باعث کاهش اتصال گل‌جالیز (*O. cumana*) به میزبان گردید (Sauerborn *et al.* 2002). همچنین آبیاری با BTH باعث کاهش چسبندگی گل‌جالیز (*O. ramose*) در شاهدانه و تنباکو شد (Gonsior *et al.* 2004). همه موارد ذکرشده در بالا، تأییدی بر دست آوردهای این تحقیق است. گزارش‌های اندکی پیرامون اثرات منفی کاربرد BTH علیه جوانه‌زنی گل‌جالیز گزارش‌شده است (Veronesi *et al.* 2004, Sauerborn *et al.* 2002, Pérez-de-Luque *et al.* 2009).

بررسی فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (PAL) در ریشه ارقام متحمل و حساس گوجه‌فرنگی

ازآنجایی‌که آنزیم PAL در مسیر روند دفاع گیاه، پدیده مقاومت و اثرات متقابل گیاه- بیمارگر مؤثر است لذا میزان فعالیت و تغییرات آنزیم مذکور به‌عنوان عامل اساسی دفاع بیوشیمیایی، در زمان حمله گل‌جالیز به هر دو رقم گوجه‌فرنگی تیمار شده با BTH اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج به دست آمده در آزمایش بالا ۱۵ روز پس از انتقال نشاء به گلدان‌های آلوده یک مرحله آبیاری با غلظت‌های مختلف محلول BTH صورت گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل BTH، پاتوژن و نوع رقم گوجه‌فرنگی در میزان فعالیت آنزیم (PAL) دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.01$) می‌باشد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد مقدار آنزیم در گیاهان تیمار شده با BTH در حضور پاتوژن بالاتر از عدم حضور پاتوژن است، همچنین مقایسه تغییرات آنزیمی دو رقم مذکور نشان داد که در رقم ارلی‌اربانا (متحمل) مقدار این تغییرات بیشتر از رقم سوپرچف (حساس) می‌باشد (شکل۵). افزایش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (PAL) که اولین آنزیم مسیر

[8]- Acibenzolar-S-methyl

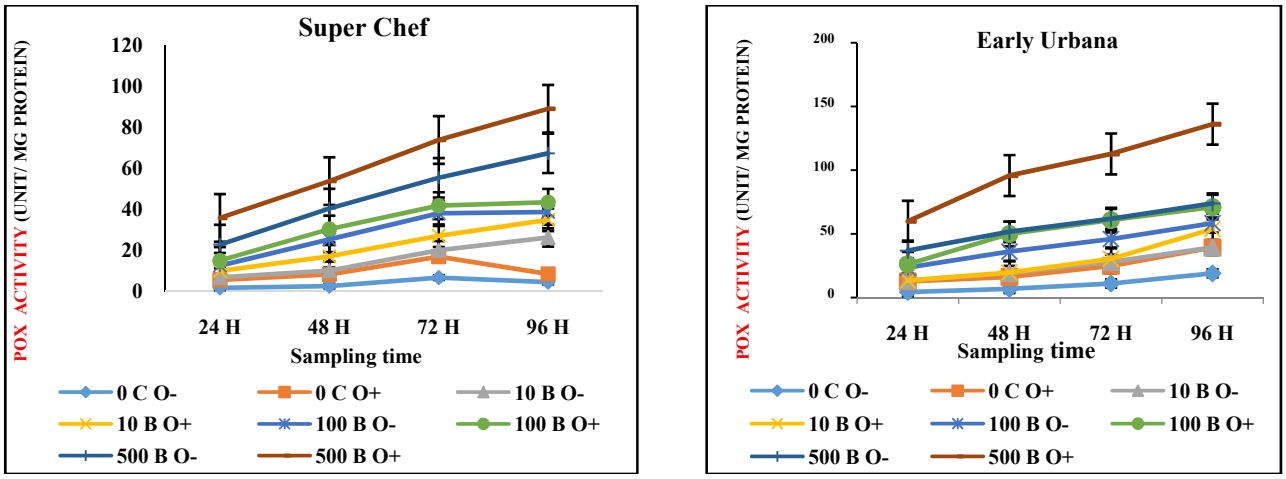


شکل ۵. تأثیر غلظت‌های مختلف BTH (B) (غلظت‌های ۰، ۱۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بر میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز در رقم سوپرچف و ارلی‌اربانا تحت شرایط حضور و عدم حضور (±) گل‌جالیز (O) *Orobanche cernua*. داده‌ها میانگین سه تکرار و چهار زمان نمونه‌برداری از ریشه است. C (Control) نشان‌دهنده شاهد است.

Figure 5. Influence of different concentrations of BTH (0, 10, 100, and 500 mg/l) on phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity in different varieties (Super Chef and Early Urbana) infected or non-infected (±) by *Orobanche cernua*. Data are means of three measurements performed on root material sampled at four time point. C, means Control.

بیوسنتز فنل‌هاست نیز در بسیاری از تنش‌ها (اثرات متقابل گیاه- بیمارگر) گزارش‌شده است (Tsuge *et al.* 2004). یافته‌ها نشان می‌دهد که PAL، آنزیمی کلیدی در متابولیسم فنیل پروپانوئیدها است که تبدیل آل- فنیل آلانین به ترانس-سینامیک اسید، اولین مرحله در متابولیسم فنولیک ها را بر عهده دارد و یک واکنش بیوشیمیایی کلیدی در دفاع گیاهان به شمار می‌رود (Bagal *et al.* 2012).

مطالعه انجام‌شده نشان داد که مقدار فعالیت آنزیمی در تیمار گیاهان گوجه‌فرنگی با افزایش BTH بالا رفت که نشان‌دهنده نقش این آنزیم در مکانیسم دفاعی گیاه در برابر تنش مذکور است (شکل ۵). گزارش‌شده است که القاکننده شیمیایی مانند BTH، SA و کیتوزان باعث افزایش فعالیت PAL در چندین گیاه و درنتیجه مقاومت در برابر پاتوژن شده است (Mandal & Mitra 2007, Chandra *et al.* 2007). نتایج همچنین نشان داد در گیاهان آلوده هر دو رقم در غلظت ۵۰۰ mg/l بنزوتیادیازول، فعالیت آنزیمی به حداکثر میزان خود رسید (شکل ۵). این نتایج بیانگر این است که غلظت ۵۰۰ mg/l، از مؤثرترین غلظت‌های BTH برای ایجاد مقاومت در برابر گل‌جالیز می‌باشد. بر طبق گزارش‌های پژوهشگران افزایش تغییرات آنزیمی می‌تواند به دلیل فعال شدن واکنش‌های مقاومتی گیاه درنتیجه ایجاد مقاومت نسبت به پاتوژن ایجاد گردد (Abdel-monaim *et al.* 2011). در بررسی قابلیت سیستمیک شدن فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز در بافت‌های ریشه چنین استنباط می‌شود که افزایش غلظت BTH در القای فعالیت آنزیمی دو رقم متحمل و حساس و درنتیجه مقاومت در برابر حمله و توسعه گل‌جالیز مرتبط است. مطالعات انجام‌شده بیانگر این است که پدیده‌ی القای مقاومت در گیاه نسبت به بیمارگر از طریق BTH در انواع گیاهان مانند شبدر سرخ (Kusumoto *et al.* 2007)، کلزا (Veronesi *et al.* 2009)، و آفتابگردان (Sauerborn *et al.* 2002) در برابر گل‌جالیز (*O. cumana*) انجام‌شده است. نتایج به‌دست‌آمده



شکل۶. تأثیر غلظت‌های مختلف (B) BTH بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در رقم ارلی‌اربانا و سوپرچف تحت شرایط حضور و عدم حضور (±) گل‌جالیز (O) *Orobanche cernua* روی ریشه گوجه‌فرنگی. C (Control) نشان‌دهنده شاهد است.

Figure 6. Influence of different concentrations of BTH (0, 10, 100, and 500 mg/l) on peroxidase (POX) activity in different varieties (Super Chef and Early Urbana) infected or non-infected (±) by *Orobanche cernua*. Data are means of three measurements performed on root material sampled at tree time point. C means Control.

از ارزیابی تأثیر کاربرد BTH بر میزان فعالیت آنزیم PAL به‌روشنی نشان می‌دهد که افزایش معنی‌دار مقدار PAL در رقم سوپرچف (حساس) از زمان ۲۴ ساعت پس از آبیاری با BTH آغازشده و تا زمان ۴۸ ساعت ادامه داشته ولی بعدازاین زمان کاهش آنزیمی مشاهده شد اما در مقایسه بیشتر از تیمار شاهد ارزیابی شد. در همین راستا کاهش فعالیت آنزیم PAL در رقم سوپرچف احتمالاً به دلیل غیرفعال شدن آنزیم توسط گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، کاهش سنتز آنزیم و یا تغییر در اجتماع زیر واحدهای آنزیم می‌باشد. این در حالی است که در رقم ارلی‌اربانا در زمان‌های مختلف سیر صعودی فعالیت آنزیم مشاهده شد به‌طوری‌که در زمان ۹۶ ساعت به اوج خود رسید. غلظت‌های پایین‌تر مورداستفاده (۱۰ و ۱۰۰mg/l)، سطوح پایین‌تری از تغییرات آنزیمی را در برابر این عامل بیماری‌زا نشان داد. گزارش‌شده است که در گیاهان گوجه‌فرنگی کاربرد سالیسیلیک اسید و ایندول استیک اسید به روش تیمار بذر حتی در غلظت های پایین باعث ایجاد مقاومت سیستمیک در برابر *O. ramose* شد Al-Wakeel *et al.* (2013).

بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX) در ریشه ارقام متحمل و حساس گوجه‌فرنگی

نتایج تجزیه واریانس بررسی میزان فعالیت پراکسیداز نشان داد اثر متقابل BTH، پاتوژن و رقم گوجه‌فرنگی در میزان فعالیت آنزیم (POX) دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.01$) می‌باشند. به‌طورکلی مقایسه رقم متحمل با رقم حساس نشان داد میزان فعالیت آنزیم در همه غلظت‌ها در رقم متحمل بیشتر از رقم حساس بود (شکل ۶). تیمار گیاهان با BTH در همه زمان‌ها باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم POX گردید به‌طوری‌که با افزایش غلظت تغییرات آنزیمی (خصوصاً در رقم ارلی‌اربانا) شدیدتر رخ داد بر اساس یافته‌های به‌دست‌آمده، تغییرات فعالیت پراکسیداز در گیاهان مقاوم نسبت به گیاهان حساس، شدیدتر و سریع‌تر است (Moreschbacher 1992). فرضیه‌ای که پراکسیدازها

در مکانیسم مقاومت گیاهان دخالت دارند بر پایه گزارش‌هایی است که بیانگر افزایش فعالیت این آنزیم در بافت‌های آلوده به‌ویژه در ارقام مقاوم می‌باشد (Patykowski *et al.* 1988, Hislop & Stahmann 1971, Kerby & Somerville 1989). در شرایط حضور و عدم حضور گل‌جالیز و تنش غلظت‌های BTH بیشترین میزان فعالیت آنزیم در هر دو رقم متحمل و حساس در زمان ۹۶ ساعت پس از تنش با غلظت ۵۰۰ mg/l مشاهده شد (شکل ۶) که می‌توان آن را به افزایش حمله پاتوژن و افزایش دفاع فعال گیاه مرتبط دانست.

بر اساس گزارش‌های به‌دست‌آمده افزایش فعالیت پراکسیداز منجر به افزایش میزان فرآیندهایی شامل سنتز فلاونوئیدها، لیگنین و اتیلن، اکسیداسیون ایندول استیک اسید و هیدروکسیلاسیون پرولین ترکیب شده در پروتئین دیواره سلولی و احتمالاً تولید سوپراکسیدآنیون می باشد (Moreau & Osman 1989) که می‌تواند در مقاومت نقش داشته باشد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش می‌توان اظهار نمود که آنزیم پراکسیداز به‌احتمال‌قوی در مکانیسم مقاومت گوجه‌فرنگی نسبت به گل‌جالیز نقش دارد. به‌طورکلی، نتایج حاصله در این بررسی نشان می‌دهد که میزان تغییرات کمی در فعالیت پراکسیداز ریشه گوجه فرنگی، منجر به فعال شدن یک سیستم اکسیداسیون فنلی و یا لیگنین سازی در پاسخ به گل جالیز و درنتیجه ایجاد مقاومت در این برهمکنش انگل–میزبان می‌شود که با مطالعات ارزیابی شاخص‌های رشدی گوجه‌فرنگی و پاتوژن کاملاً همخوانی دارد. زیرا در غلظت‌های بالای BTH میزان حمله و نفوذ گل‌جالیز کاهش یافت و همچنین در غلظت ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر BTH رقم مقاوم که میزان فعالیت آنزیم به اوج می‌رسد هیچ حمله‌ای مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری کلی

در پایان می‌توان نتیجه گرفت که بنزوتیادیازول به‌خوبی قادر است گل جالیز را مهار کند و کاربرد تلفیقی غلظت پایین این ترکیب به همراه رقم متحمل بهترین راهکار جهت کنترل این گیاه انگل است. دست آورد قابل‌توجه دیگر اینکه، کاربرد غلظت‌های بالای BTH روی رقم حساس (سوپرچف) مقاومتی هم‌سطح رقم متحمل (ارلی‌اربانا) به‌تنهایی (بدون تیمار با BTH) ایجاد کرد. همچنین کاربرد غلظت‌های مختلف BTH باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های PAL و POX می‌شود که درنتیجه منجر به فعال شدن یک سیستم اکسیداسیون فنلی و یا لیگنین سازی در پاسخ به گل جالیز و درنتیجه ایجاد مقاومت در این برهمکنش انگل–میزبان می‌شود. لذا استفاده از این ماده در مهار این گیاه انگل روی گوجه‌فرنگی امیدوارکننده و نویدبخش می‌باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از جناب آقای دکتر میرتاج‌الدینی عضو محترم هیئت‌علمی دانشکده علوم پایه دانشگاه شهید باهنر کرمان به خاطر همکاری در شناسایی، تشخیص و تأیید گونه گل‌جالیز، صمیمانه تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

منابع

Aalders A.J.G. and Pieters R. 1987. Resistance in *Vicia faba* to *Orobanche crenata*: True resistance versus hidden susceptibility. Euphytica 36(1): 227-236.

Abdel-monaim M.F., Ismail M.E. and Morsy K.M. 2011. Induction of systemic in soybean plants against *Fusarium* wilt disease by seed treatment with benzothiadiazole and humic acid. Microbiology 39(4): 290-298.

Abo-Elyousr K.A. and El-Hendawy H.H.2008. Integration of *Pseudomonas fluorescens* and acibenzolar-S-methyl to control bacterial spot disease of tomato. Crop protection 27(7): 1118-1124.

Al-Wakeel S., Moubasher H., Gabr M. and Madany M.M.Y. 2013. Induced systemic resistance: an innovative control method to manage branched broomrape (*Orobanche ramosa* L.) in tomato. IUFS, Journal of Biology 72: 9-21.

Azami-Sardooei Z., Fekrat F. and Ghelavand F. 2017. A review of the application of Benzothiadiazole in management control of plant diseases. Plant Pathology Science. In Press, (in Persian).

Azami-Sardooei Z., Seifi H.S., De Vleesschauwer D. and Höfte M. 2013. Benzothiadiazole (BTH)-induced resistance against *Botrytis cinerea* is inversely correlated with vegetative and generative growth in bean and cucumber, but not in tomato. Australasian Plant Pathology 42(4): 485-490.

Bagal U.R., Leebens mack J.H., Walter Lorenz W. and Dean J.F.D. 2012. The phenylalanine ammonia lyase (PAL) gene family shows a gymnosperm specific line age. BMC Genoms 13(3): 1471-2164.

Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248- 254.

Castejon-Munoz M., Romero- Munoz F. and Garcia- Torres L. 1993. Effect of planting date on broomrap (*Orobanche cernua* Loeft.) infections in sunflower (*Helianthus annuus* L.) Weed Research 33: 171- 176.

Chandra A., Saxena R., Dubey A. and Saxena P. 2007. Change in phenylalanine ammonia lyase activity and isozyme patterns of polyphenol oxidase and peroxidase by salicylic acid leading to enhanced resistance in cowpea against *Rhizoctonia Solani*. Acta Physiologiae Plantarum 29: 361–367.

Chen C., Zheng Z., Huang J., Lai Z. and Fan B. 2009. Biosynthesis of salicylic acid in plants. Plant Signaling Behavior 4: 493-496.

Dorr I., Staack A. and Kollmann R. 1994. Resistance of Helianthus to Orobanche-histological and cytological studies. In: A.H. Pieterse J.A.C Verkleij & S.J. ter Borg *(*Eds.*)*, Proceedings of the 3rd International Workshop on Orobanche and Related Striga Research. Amsterdam: Royal Tropical Institute 276–289.

Eizenberg H., Lande T., Achdari G., Roichman A. and Hershenhorn J. 2007. Effect of Egyptian broomrape (*Orobanche aegyptiaca*) seed-burial depth on parasitism dynamics and chemical control in tomato. Weed Sciences 55: 152-156.

Elmer W.H. 2006. Effect of acibenzolar-S-methyl on the suppression of Fusarium wilt of cyclamen. Crop Protection 25: 671–676.

Fan Z., Buschmann W. and Sauerborn H. J. 2003. The efficacy of resistance inducing agents for the control of sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.). Deutscher Tropentag. University Gottingen 11-19.

Goellner K., and Conrath U. 2008. Priming: it's all the world to induced disease resistance. European Journal of Plant Pathology 121(3): 233-242.

Goldwasser Y., Plakhine D., Kleifeld Y., Zamski E. and Rubin B. 2000. The Differential susceptibility of vetch (*Vicia* spp.) to *Orobanche aegyptiaca*: Anatomical Studies Annual of Botany 85: 257-262.

Gonsior G., Buschmann H., Szinicz O., Spring G. and Sauerborn J. 2004. Induced resistance an innovative approach to manage branched broomrape (*Orobanche ramosa*) in hemp and tobacco. Weed. Sciences 52: 1050-1053.

Hadizadeh M.H. 2012. Broomrape: identification and control. Institute Plant Protection Research. Tehran, Iran.

Haidar M. A., Bibi W. and Abdel- Khalek N. 1995. Effect of wheat and barley residues on branched broomrape (*Orobanche ramose*) growth and development in potatoes. Brighton Crop Protection Conference-Weed 3:871-876.

Hislop E.C. and Stahmann M.A. 1971. Peroxidase and ethylene production by barley leaves infected with *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. Physiological Plant Pathology, 1(3): 297-312

Joel D.M., Hershenhorn J., Eizenberg H., Aly R., Ejeta G., Rich P. J. 2007. Biology and management of weedy

root parasites. Horticultural Reviews. 33: 267–349.
Kar M., and Mishra D. 1976. Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiology 57: 315-320.
Kerby K. and Somerville S. 1989. Enhancement of specific intercellular peroxidases following inoculation of barley with *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. Physiological and Molecular Plant Pathology 35(4): 323-337.
Kusumoto D., Goldwasser Y., Xie X., Yoneyama K., Takeuchi Y. and Yoneyama K. 2007. Resistance of red clover (*Trifolium pretense*) to the root parasitic plant *Orobanche minor* is activated by salicylate but not by jasmonate. Annual of Botany 100: 537- 544.
Lawton K., Friedrich L., Hunt M., Weymann K., Delaney I., Kessmann H., Staub T and Ryals J.1996. Benzothiadiazole induces disease resistance in Arabidopsis by activation of the systemic acquired resistance signal transduction pathway. Plant Pathology 10: 71-82.
Lu H. 2009. Dissection of salicylic acid-mediated defense signaling networks. Plant Signaling and Behavior 4:713-717.
Macko V.W., Woodbury E. and Stahmann M.A. 1968. The effect of peroxidase on the germination and growth of mycelium of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. Phytopathology 58: 1250-1254.
Mandal S. and Mitra A. 2007. Reinforcement of cell wall in roots of *Lycopersicon esculentum* through induction of phenolic compounds and lignin by elicitors. Physiological and molecular plant pathology 35(4): 323-337.
Mariam E. G. and Suwanketnikom R. 2004. Screening of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) varieties for resistance to branched broomrape (*Orobanche ramosa* L.). Kasetsart. Journal of Natural Sciences 38: 434-439
Meighan F., Yazdani M. & Minbashi M. 2009. Study of tomato (*Lycopersicon escolentom*) cultivars tolerance to broomrape (*Orobanche aegyptiaca*). Journal of applied entomology and phytopathology 77: 93-111 (In Persian)
Mohammadi M. & Kazemi H. (2002). Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistant wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and induced resistance. Plant Science 162:491-498.
Moreau R.A. and Osman S.F. 1989. The properties of reducing agents released by treatment of *Solanum tuberosum* with elicitors from *Phytophthora infestans*. Physiological and molecular plant pathology 35(1): 1-10.
Moreschbacher B.M. 1992. Involvment in response to phatogens. Plant Peroxidase. University of Geneva Pp.1980-1990.
Nezamabadi H., Rahimian E., Zand H., Alizadeh M. and Naghavi M. R. 2013.Investigating broomrape (*Orobanche aegyptiaca*) populations diversity in response to herbicides and banzotiadiazol in tomato (*Lycopersicum esculentum*). Applied Entomology and Phytopathology 80(2): 103-118.
Parr A.J. and Bolwell G.P. 2000. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. Journal of Science Food Agriculture 80: 985-1012.
Patykowski Y., Urbanek A. and Kaczorowska T. 1988. Peroxidase in leaves of wheat cultivars differing in resistance to *Erysiphe graminis* DC. Journal of in Phytopathology 122: 126-134.
Pérez-de-Luque A., Jorrín J.V. and Rubiales D. 2004. Crenate broomrape control in pea by foliar application of benzothiadiazole (BTH). Phytoparasitica 32: 21–29.
Reuveni R. 1995. Biochemical markers for disease resistance. Molecular Methods in Plant Pathology 99-114.
Rispail N., Dita M.A., González-Verdejo C.I., Pérez De-Luque A., Castillejo M.A., Prats E., Román B. Jorrín J. and Rubiales D. 2007. Plant resistance to parasitic plants: molecular approaches to an old foe. New Phytology 173: 703–712.
Robb J., Powell D.A. and Street P.F.S. 1987. Time course of wall-coating secretion in *Verticillium* infected tomatoes. Physiological and molecular plant pathology 31: 217-226.
Sauerborn J., Buschmann H., Ghiasi K.G. and Kogel K.H. 2002. Benzothiadiazole activates resistance in sunflower (*Helianthus annuus*) to the root-parasitic weed *Orobanche cuman*. Phytopathology 92: 59-64.
Shimi P. and Termeh, F. 2004. Weeds of Iran. Plant Pests & Diseases Research Institute. Tehran.154 p. (in Persian).
Solecka D. and Kacperska A. 2003. Phenylpropanoid deficiency affects the course of plant acclimation to cold.

Physiologia Plantarum 119: 253–262.
Thalouarn P., Labrousse P. and Berville A. 2006. The resistance mechanism of mutagenised tomato line resistant to *Orobanche* spp. *Workshop Parasite Plant Management in Sustainable Agriculture, Final Meeting of Cost* 849, 23-24 November, ITQ13 Deiras-Lisbon, Portugal: 34-35.
Tokasi S., Banaeian Aval M. and Ghanbari A. 2015. The difference in response to the infection of Egyptian broomrape on tomato varieties. Journal of Plant Protection (Agricultural Sciences and Technology) 28(3): 425-428 (in Persian).
Tokasi S., Bannayan Aval M., Mashhadi H.R. and Ghanbari A. 2014. Screening of resistance to egyptian broomrape infection in tomato varieties. Planta Daninha 32: 109-116.
Tsuge S., Ochiai H., Inoue Y., Ohu T., Tsuno K., Kaku K. and Kubo Y. 2004. Phosphoglucose isomerase in pathogenicity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Phytopathology 94: 478–483.
Veronesi Ch., Delavault Ph. and Simier Ph. 2009. Acibenzolar-S-methyl induced resistance in oilseed rape (*Brassica napus* L.) against branched broomrape (*Orobanche ramose* L.). Crop Protection 28: 104-108.
Vicent M.R.S. and Plasencia J. 2011. Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. Journal of Experimental Botany 62:3321-3338.
Vlot A., Dempse D. A. and Klessig D. F. 2009. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. Annual Review of Phytopathology 47: 177-206.
Wang D., Pajerowska-Mukhtar K., Hendrickson Culler A. and Dong X. 2007. Salicylic acid inhibits pathogen growth in plants through repression of the auxin signaling pathway. Current Biology 17: 1784-1790.
Yashimoto K., Jikumaru Y., Kamiya Y., Kusano M., Consonni C., Panstruga R., Ohsumi Y. and Shirasu K. 2009. Autophagy negatively regulates cell death by controlling NPR1-dependent salicylic acid signaling during senescence and the innate immune response in Arabidopsis. The Plant Cell 21: 2914-2927.