

## اثر عصاره برگ *Reynoutria sachalinensis* بر واکنش‌های دفاعی بوته خیار سالم یا مایه‌زنی شده با عامل بیماری سفیدک پودری

عبدالحسین جمالی زواره<sup>۱</sup>، عباس شریفی تهرانی<sup>۲</sup> و مجتبی محمدی<sup>۲</sup>

### چکیده

عصاره برگ گیاه *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai ترکیبی است که برای کنترل برخی از بیماری‌ها و به خصوص سفیدک پودری کدوییان (ناشی از قارچ *Podosphaera fusca*) توصیه شده و مکانیزم اثر آن القای واکنش‌های دفاعی گیاه ذکر شده است. در پژوهش حاضر اثر عصاره برگ این گیاه بر تغییر برخی از واکنش‌های دفاعی بوته خیار بررسی شد. پس از تیمار اولین برگ حقیقی بوته خیار با عصاره برگ *R. sachalinensis*, تغییرات فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و فنیل آلانین آمونیالیاز و میزان ترکیبات فنلی، در اولین و دومین برگ حقیقی بوته سالم یا مایه زنی شده با *P. fusca* بررسی و با شاهد مقایسه گردید. نتایج نشان داد که فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز بوته خیار پس از کاربرد عصاره افزایش یافت و با توجه به این که افزایش در هر دو تیمار سالم و مایه زنی شده دیده شد، تنش ناشی از نفوذ بیمارگر بر آن اثری نداشته است. فعالیت ویژه آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز در بوته سالم در طول ۲۴ ساعت پس از کاربرد عصاره افزایش سریع و زودگذر داشت اما در بوته مایه زنی شده افزایش فعالیت این آنزیم تدریجی و طولانی تر بود که احتمالاً ناشی از تعامل اثر عصاره با تنش نفوذ بیمارگر بوده است. میزان ترکیبات فنلی بافت بوته خیار تیمار شده با عصاره علی‌رغم نوسانات جزیی، روند تغییر مشخصی نشان نداد.

**واژه‌های کلیدی:** خیار، سفیدک پودری، عصاره برگ *Reynoutria sachalinensis*, پراکسیداز، فنیل آلانین آمونیالیاز، ترکیبات فنلی

### مقدمه

داد که پس از مایه زنی بیمارگر روی برگ خیار در شرایط گلخانه، مرحله تندش اسپور و شروع رشد قارچ در ۲۴ ساعت اول انجام شد. مرحله نفوذ و ارتباط با میزان (شروع فرایند بیماری زایی) طی ۲۴ تا ۴۸ ساعت پس از مایه زنی صورت گرفت و پس از آن گسترش قارچ و کلینیزه کردن سطح بافت ادامه یافت. اولین نشانه‌های تشکیل کنیدیوفور قارچ حدود

سفیدک پودری مهم‌ترین بیماری خیار در مناطق معتدل تا گرم و کم باران است که توسط قارچ *Podosphaera fusca* (Fr.) U. Braun & N. Shishkoff [syn. *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht. Ex Fr.) Pollacci] ایجاد می‌شود. بررسی الگوی زمانی توسعه این بیماری توسط جمالی زواره و همکاران نشان

۱. استادیار بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

۲. به ترتیب استاد و استادیار بیماری شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج

حاضر اثر عصاره برگ *R. sachalinensis* روی فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و فنیل آلانین آمونیالیاز و مقدار ترکیبات فنلی گیاه خیار سالم یا مایه زنی شده با عامل بیماری سفیدک پودری در طول دوره توسعه بیماری بررسی شده است.

## مواد و روش‌ها

### ۱. پرورش بوته‌های خیار در گلخانه

بذر خیار رقم سوپر دامینوس در خاک سترون مشکل از مقادیر مساوی خاک زراعی، ماسه و کود حیوانی کاشته شد. گلدان‌ها در گلخانه در شرایط دمایی ۲۸ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۰ تا ۸۰ درصد و دوره روشناختی ۱۴ ساعته نگهداری شدند. پس از این‌که بوته‌ها تا مرحله دومین برگ حقیقی رشد کردند، گلدان‌هایی که حداقل چهار بوته یک‌نواخت داشتند برای انجام آزمایش استفاده شدند.

### ۲. تهیه عصاره برگ گیاه *Reynoutria sachalinensis*

برای تهیه عصاره ۰.۱٪ (وزن به حجم) مطابق روش کوالوسکی و هرگر (۲۱) برگ گیاه کاملاً خشک شد و به صورت پودر نرمی درآمد. یک گرم از این پودر به مدت ده دقیقه در ده میلی‌لیتر استن (CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>) غوطه ور شد، سپس حجم مخلوط با افزودن آب م قطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسید. پس از یک ساعت مخلوط با استفاده از پارچه ململ صاف گردید.

### ۳. مایه زنی قارچ و ایجاد بیماری روی گیاه

به روشی که توسط جمالی زواره و همکاران (۱۸) ذکر شده، اسپورهای جوان *P. fusca* موجود در سطح برگ‌های خیار، درون آب م قطر غوطه ور گردید و سپس تعداد اسپور در سوسپانسیون روی ۴۰۰۰۰ اسپور در میلی‌لیتر تنظیم شد. بالاصله با استفاده از یک افسانه دستی، سوسپانسیون روی برگ‌های مورد نظر پاشیده شد در حدی که سطح برگ خیس شود اما جاری نگردد. بوته‌های مایه زنی شده به مدت ۲۴ ساعت در شرایط تاریکی و رطوبت بالاتر از ۹۰٪ نگهداری و سپس به شرایط عادی گلخانه برگ‌دانده شدند. پس از ۸ تا ۱۰

۱۴۴ ساعت پس از مایه زنی دیده شد (۱۷ و ۱۸). گیاه *Reynoutria sachalinensis* از خانواده Polygonaceae بومی شرق آسیا است و در اواسط قرن ۱۹ به عنوان یک گیاه علوفه‌ای وارد اروپای مرکزی شد (۱۶). عصاره برگ این گیاه ترکیب پیچیده‌ای است که اثر آن در کنترل برخی از بیماری‌ها ثابت شده است. در مورد اثر این عصاره روی بیماری سفیدک پودری خیار تحقیقات زیادی صورت گرفته و تأثیر آن تأیید شده است (۵، ۸، ۱۰، ۱۴ و ۲۹). هم‌چنین گزارش شده که عصاره این گیاه در کنترل بیماری‌های سفیدک پودری سیب و بگونیا (۱۴) و انگور (۱۵ و ۱۶)، بادزدگی سیب زمینی (۲۶) و زنگ لوبیا و میخک (۱۶) نیز مؤثر بوده است. براساس گزارش‌های موجود عصاره برگ این گیاه در شرایط آزمایشگاه هیچ‌گونه سمیت مستقیمی روی ریشه‌های رویشی قارچ نداشته و تنها اثر مستقیم آن ممانعت جزیی از جوانه زنی اسپور قارچ بوده است (۵) اما در بوته‌های خیار که با این عصاره تیمار و با قارچ عامل سفیدک پودری مایه زنی شده بودند، اغلب هوستوریم‌های قارچ در محل کاربرد عصاره تخریب و مضمضل شده و به‌وسیله یک ماده بی‌شكل پوشیده شدند (۲۹). تراکم ریسه کلنی‌های سفیدک پودری روی بوته تیمار شده با عصاره کمتر بود و در این کلنی‌ها تشکیل کنیدیوفور و میزان اسپورزایی کاهش یافت (۱۶). با توجه به تأثیر زیاد این عصاره در القای فاکتورهای دفاعی گیاه به نظر می‌رسد که روش تأثیر آن، بیش از آن که خاصیت قارچکشی مستقیم باشد، القای واکنش‌های دفاعی گیاه است بدین معنی که وقوع بیماری را از طریق مقاومت موضعی کاهش می‌دهد (۲۹).

یکی از خصوصیات مقاومت اکتسابی سیستمیک (SAR) در گیاهان، همراه بودن این نوع مقاومت با تغییرات بیوشیمیایی مختلفی در گیاه از جمله افزایش پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی است (۴) و گزارش‌های متعددی در مورد همراه بودن مقاومت گیاهان با فعالیت بیشتر آنزیم‌های پراکسیداز (۱۳، ۲۰، ۲۲ و ۳۰)، و فنیل آلانین آمونیالیاز (۱ و ۲۴) و افزایش میزان کل ترکیبات فنلی گیاه (۱۲ و ۲۸) وجود دارد. در مقاله

۶. ارزیابی فعالیت آنزیم‌های دفاعی و مقدار ترکیبات فنلی
- عملیات استخراج عصاره نمونه‌های گیاهی و ارزیابی فعالیت ویژه آنزیم‌های پراکسیداز و فنیل آلانین آمونیالیاز و اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنلی عصاره به شرح زیر انجام شد:
- استخراج عصاره پروتئینی نمونه گیاه به روش کن و همکاران (۳) با استفاده از بافر فسفات سدیم؛
  - استخراج عصاره فنلی نمونه گیاه به روش اعتباریان (۹) با استفاده از متانول؛
  - اندازه‌گیری میزان کل پروتئین عصاره پروتئینی به روش برادفورد (۲) با استفاده از معروف برادفورد و فراکسیون IV آلبومین سرم گاوی؛
  - ارزیابی فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز به روش محمدی و کاظمی (۲۳) با استفاده از بافر سیترات فسفات و گوئیکول؛
  - ارزیابی فعالیت ویژه آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز به روش کن و همکاران (۳) با استفاده از بافر تریس حاوی فنیل آلانین؛
  - اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنلی بافت برگ به روش سیورز و دالی (۲۵) با استفاده از معروف فولین و کربنات سدیم.

#### ۷. بررسی آیزوژایم‌های پراکسیداز

تغییر انواع و مقدار آیزوژایم‌های پراکسیداز عصاره نمونه در جریان بیماری‌زایی از طریق الکتروفورز در ژل پلی اکریلامید ناواسرشت (native PAGE) با استفاده از روش گارفین (۱۱) مشخص گردید. از دستگاه الکتروفورز صفحه‌ای عمودی و منبع تغذیه پایا پژوهش مدل EPS7601 برای تهیه و اجرای ژل استفاده شد. ژل جدا کننده ۱۲٪ به ارتفاع پنج سانتی‌متر و ژل متراکم کننده ۶٪ به ارتفاع چهار سانتی‌متر دارای ۲۲ چاهک تهیه شد. برای بارگذاری، حجم مقداری از عصاره پروتئینی گیاه که ۳۰ میکروگرم پروتئین داشت، با افزودن بافر نمونه به ۳۰ میکرولیتر رسید و پس از اختلاط کامل در چاهک مورد نظر تخلیه شد. الکتروفورز با تنظیم شدت جریان در ژل متراکم کننده برابر ۷۵

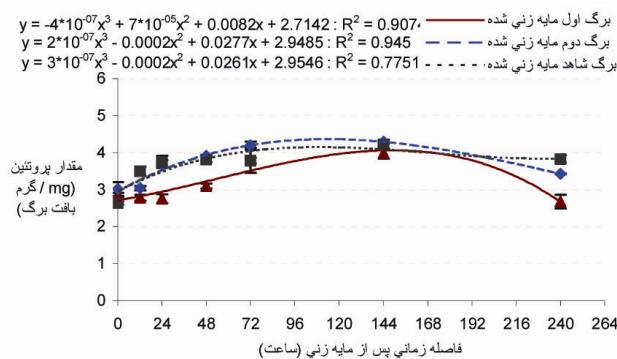
روز لکه‌های بیماری روی برگ‌ها کاملاً مشخص بود.

#### ۴. ارزیابی اثر عصاره برگ *R. sachalinensis* بر فعالیت آنزیم‌ها و مقدار ترکیبات فنلی در گیاه سالم

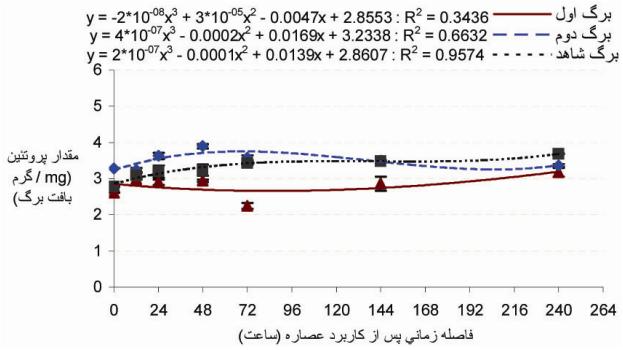
طرح آزمایش به روش فاکتوریل با سه تیمار، هفت زمان و دو نمونه انجام گرفت. عصاره برگ *R. sachalinensis* بر سطح بالا و زیر اولین برگ حقیقی بوته‌های خیار پاشیده شد. برای بوته‌های شاهد از آب مقطر خالص استفاده گردید. سپس در فواصل زمانی صفر، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۱۴۴ و ۲۴۰ ساعت پس از تیمار، از اولین برگ حقیقی (از این پس برگ اول گفته می‌شود) و دومین برگ حقیقی (از این پس برگ دوم گفته می‌شود) بوته‌های تیمارشده و برگ بوته‌های شاهد (از این پس برگ شاهد گفته می‌شود) نمونه‌گیری شد. در هر زمان حداقل پنج برگ از تیمار مورد نظر گرفته و نیمی از هر برگ برای بررسی فعالیت آنزیمی و نیم دیگر برای بررسی ترکیبات فنلی استفاده گردید. نیمة برگ به قطعات کوچک‌تر بریده شده و از مخلوط این قطعات مقدار یک گرم بافت به عنوان نمونه آنزیمی یا فنلی برداشته شد (در دو تکرار). نمونه‌های گرفته شده بلافضلله به شرحی که ذکر خواهد شد عصاره گیبری و فعالیت آنزیم‌های دفاعی و مقدار ترکیبات فنلی در آنها بررسی گردید.

#### ۵. ارزیابی اثر عصاره برگ *R. sachalinensis* بر فعالیت آنزیم‌ها و مقدار ترکیبات فنلی در طی فرایند بیماری‌زایی

آزمایش به روشهایی که برای گیاه سالم ذکر شد، صورت گرفت. اما ۲۴ ساعت پس از کاربرد عصاره برگ *R. sachalinensis*، کلیه برگ‌های بوته‌های خیار با پاشیدن سوسپانسیون اسپور قارچ بیمارگر مایه زنی شده و در شرایط مناسب برای بیماری‌زایی قرار گرفتند. سپس در فواصل زمانی صفر، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۱۴۴ و ۲۴۰ ساعت پس از مایه زنی بیمارگر، نمونه‌گیری از تیمارهای مختلف به شرحی که در بالا ذکر شد صورت گرفت.



شکل ۲. نمودار تغییرات مقدار کل پروتئین محلول برگ خیار پس از کاربرد عصاره برگ *R. sachalinensis* روی برگ اول و مایه زنی بیمارگر روی بوته



شکل ۱. نمودار تغییرات مقدار کل پروتئین محلول برگ خیار پس از کاربرد عصاره برگ *R. sachalinensis* روی برگ اول

پروتئین برگ اول عموماً از شاهد کمتر بود و به خصوص در گیاه سالم در ساعت ۷۲ و در بوته مایه زنی شده در ساعت ۱۲ تا ۴۸ این کاهش نسبت به شاهد بسیار مشخص بود (شکل‌های ۱ و ۲). این نکته نشان می‌دهد که کاربرد عصاره مقدار پروتئین را در برگ تیمارشده کاهش داده است. در مقابل مقدار پروتئین برگ دوم عموماً در حد شاهد بود. براساس گزارش جمالی زواره و همکاران (۱۷) در طی ۲۴ تا ۴۸ ساعت پس از مایه زنی، نفوذ قارچ بیمارگر به بافت میزان پروتئین میزبان مؤثر باشد، اما تحریکات ممکن است بر میزان پروتئین در برگ اول به دلیل این‌که در بوته سالم نیز کمتر بودن پروتئین در برگ اول به دلیل این‌که در بوته سالم نیز دیده شد، ناشی از اثر عصاره برگ *R. sachalinensis* بوده و در ارتباط با تحریکات بیمارگر نبوده است. در برگ دوم تغییرات مشابه شاهد بوده و اثر خاصی از عصاره دیده نمی‌شود بنابراین تأثیر عصاره بر پروتئین گیاه میزان به صورت موضعی بوده و اثر سیستمیک نداشته است.

ب) هم‌چنین پس از کاربرد عصاره برگ *R. sachalinensis* فعالیت پراکسیداز در برگ اول و دوم بوته سالم افزایش نشان داد (شکل ۳). افزایش در برگ دوم با تأخیر شروع شد و از نظر میزان کمتر بود (در برگ اول به بیش از ۷ برابر و در برگ دوم به حدود ۳ برابر مقدار اولیه رسید). به همین ترتیب در بوته مایه زنی شده فعالیت پراکسیداز برگ اول و دوم روند افزایشی نشان داد (شکل ۴). افزایش در برگ اول بیشتر بود و در برگ

ولت و در ژل جداکننده برابر ۱۰۰ ولت و به مدت ۴ ساعت صورت گرفت. پس از اجرای الکتروفسورز و خارج کردن صفحات ژل از قالب، رنگ آمیزی آیزوژایم‌های پراکسیداز درونژل به روش جنینگر و همکاران (۱۹) با تغییراتی انجام شد. بافر سیترات فسفات ۲۵ میلی‌مول ( $pH = 5/4$ ) محتوی پنج میلی‌مول گوئیکول تهیه و ژل در آن غوطه ور گردید و به مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر تکان داده شد. سپس پراکسید هیدروژن ۳۰٪ به غلظت نهایی یک درصد به بافر اضافه گردید. در طول کمتر از ۳۰ ثانیه نوارهای قرمز قهوه‌ای ظاهر شد که نشان دهنده آیزوژایم‌های پراکسیداز بود. آن گاه ژل از بافر خارج شده با آب مقطر شستشو و تا زمان بررسی در آب مقطر در دمای ۴°C نگهداری گردید.

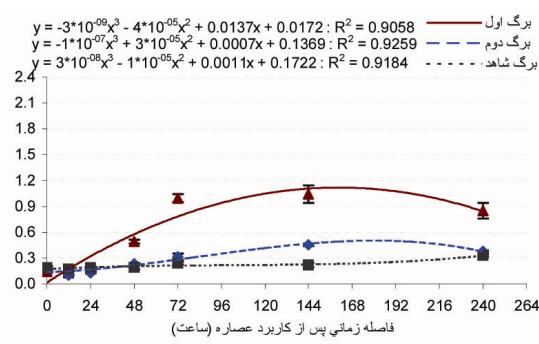
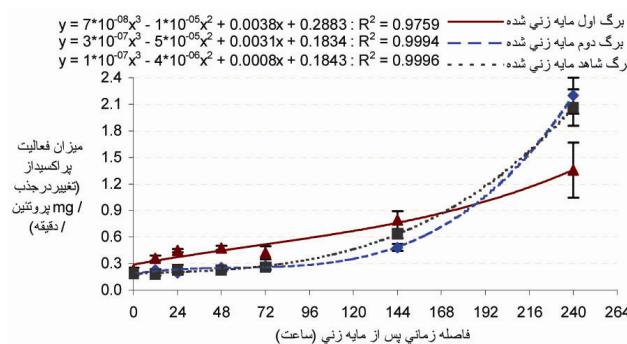
## ۸. محاسبات آماری

برای تجزیه واریانس داده‌ها از نرم افزار SAS و برنامه GLM استفاده شد و میانگین تیمارها به طریق استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۰.۵ مقایسه گردید.

## نتایج و بحث

الف) پس از کاربرد عصاره برگ *R. sachalinensis* روی اولین برگ، مقدار پروتئین برگ اول و برگ دوم گیاه روند افزایش جزئی نسبت به زمان صفر نشان داد. اما در مقام مقایسه، مقدار

## اثر عصاره برگ *Reynoutria sachalinensis* بر واکنش‌های دفاعی بوته خیار سالم یا ...



شکل ۳. نمودار تغییرات فعالیت پراکسیداز برگ خیار پس از کاربرد عصاره برگ *R. sachalinensis* روی برگ اول و مایه زنی بیمارگر روی بوته

عصاره برگ *R. sachalinensis* روی برگ اول

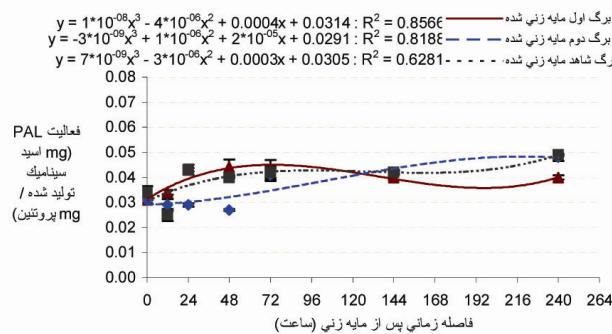
تیمارشده مشاهده نشد. نوارهای آیزوژایمی در برگ اول تیره تر از برگ دوم تشکیل شد که نشان دهنده افزایش فعالیت پراکسیداز در برگ‌های تیمارشده با عصاره برگ *R. sachalinensis* می‌باشد. وضعیت آیزوژایم‌ها در تیمارهای مختلف با نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنزیم که در بالا اشاره شد، همانگی دارد.

د) فعالیت PAL برگ اول در بوته سالم تا ۲۴ ساعت افزایش و سپس کاهش یافت اما در بوته مایه زنی شده مقدار افزایش اولیه و نیز سرعت کاهش بعدی بسیار کمتر از گیاه سالم بود (شکل‌های ۵ و ۶). فعالیت PAL برگ دوم عموماً همانگ با شاهد بود و تنها در بوته مایه زنی شده در ساعت ۲۴ تا ۴۸ کاهش قابل توجهی دیده شد. این نتایج نشان می‌دهد که کاربرد عصاره برگ *R. sachalinensis* فعالیت PAL گیاه را طی ۲۴ ساعت اول افزایش داده است. این افزایش در گیاه سالم زودگذر بود و به سطح قبلی برگشته است اما در بوته مایه زنی شده دوام بیشتری یافته که این دوام می‌تواند نتیجه تعامل اثر عصاره با تحریکات بیمارگر باشد. فعالیت در برگ دوم همانگ با شاهد بوده و نشان می‌دهد که اثر عصاره در القاء این آنزیم سیستمیک نبوده است. در بررسی اشنایدر و اولریچ نیز فعالیت PAL در بوته تیمارشده با عصاره برگ *R. sachalinensis* پس از یک روز به حداقل خود رسید و سپس به حد طبیعی کاهش یافت (۲۷) که با یافته‌های ما همانگ است.

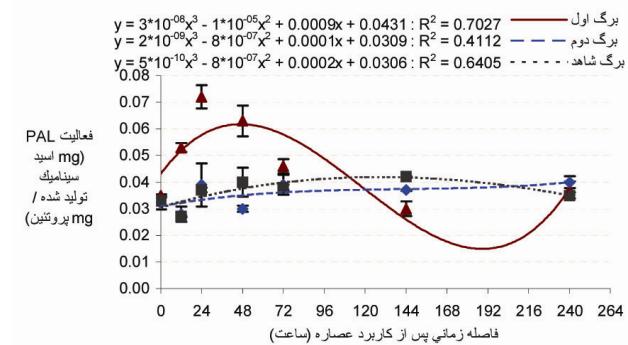
ه) بررسی مقدار ترکیبات فنلی بافت خیار تحت تیمارهای مختلف نشان داد که چه در گیاه سالم و چه در گیاه مایه زنی

دوم با شاهد مایه زنی شده اختلاف معنی‌داری نداشت به طوری که در زمان ۲۴۰ ساعت همراه با شاهد سریعاً افزایش یافت. این نتایج نشان می‌دهد که فعالیت پراکسیداز گیاه پس از کاربرد عصاره برگ *R. sachalinensis* شروع به افزایش کرده و چون این افزایش در بوته سالم نیز دیده شد نیازی به تحریک بیمارگر نداشته است. در برگ دوم افزایش فعالیت بسیار کمتر بوده و مشاهده می‌شود که در بوته مایه زنی شده بیشتر همانگ با شاهد است. بنابراین اثر عصاره برگ *R. sachalinensis* در القای پراکسیداز در گیاه به صورت کاملاً سیستمیک نبوده است. این نتایج با یافته‌های اشنایدر و اولریچ موافقت دارد که گزارش کردند فعالیت پراکسیداز در بوته خیار تحت اثر عصاره برگ *R. sachalinensis* افزایش یافت به طوری که در ۵۰ ساعت پس از کاربرد ترکیب به حدود دو برابر رسید (۲۷).

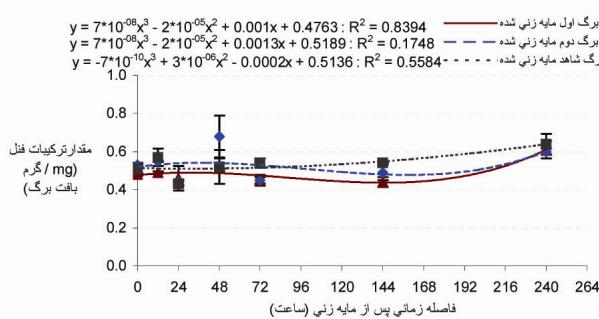
ج) در بررسی وضعیت آیزوژایم‌های پراکسیداز، چهار نوار در ژل الکتروفورز تشکیل شد (شکل ۹) که نمایانگر چهار آیزوژایم پراکسیداز بود. تیرگی آیزوژایم‌های برگ اول در بوته مایه زنی شده اختلاف محسوسی با بوته سالم نداشت اما در برگ دوم و شاهد، نوارها در بوته مایه زنی شده تیره تر بودند. در شاهد سالم تیرگی نوارها در طول زمان تغییر محسوسی نداشت ولی در سایر تیمارها معمولاً نوارها در ساعت اولیه ضعیف تر بود و به تدریج تیره تر شدند. نوار دوم ( $R_m = 42$ ) و نوار سوم ( $R_m = 47$ ) تیره تر از سایر نوارها ظاهر شد و به نظر می‌رسد آیزوژایم غالب باشند. هیچ آیزوژایم جدیدی در برگ‌های



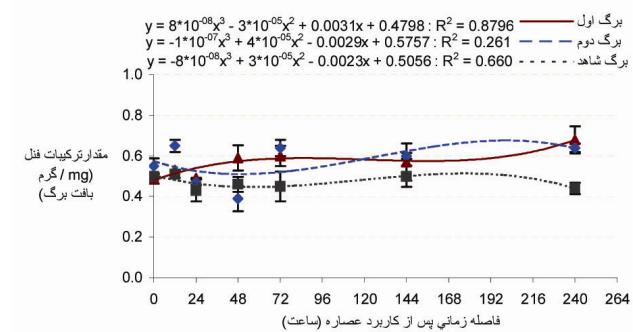
شکل ۶. نمودار تغییرات فعالیت PAL برگ خیار پس از کاربرد عصاره برگ *R. sachalinensis* روی اول و مایه زنی ییمارگر روی بوته



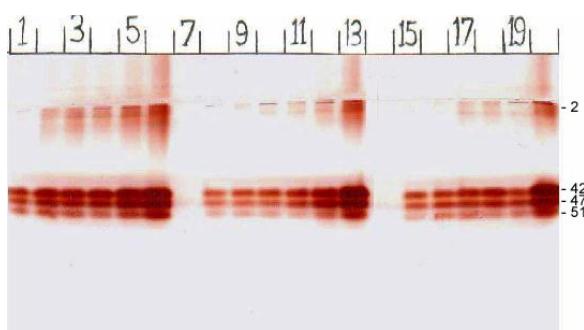
شکل ۵. نمودار تغییرات فعالیت PAL برگ خیار پس از کاربرد عصاره برگ *R. sachalinensis* روی برگ اول



شکل ۸. نمودار تغییرات مقدار کل ترکیبات فنل برگ خیار پس از کاربرد عصاره برگ *R. sachalinensis* روی اول و مایه زنی ییمارگر روی بوته



شکل ۷. نمودار تغییرات مقدار کل ترکیبات فنل برگ خیار پس از کاربرد عصاره برگ *R. sachalinensis* روی برگ اول



شکل ۹. وضعیت آیزوژایم‌های پراکسیداز در بوته خیار تیمار شده با عصاره *R. sachalinensis*

تصویر قسمت راست وضعیت آیزوژایم‌ها در بوته سالم و تصویر سمت چپ وضعیت آیزوژایم‌ها در بوته مایه زنی شده با قارچ عامل سفیدک پودری خیار را نشان می‌دهد. چاهک‌های شماره ۱ تا ۶ وضعیت آیزوژایم‌ها را در برگ تیمار شده با عصاره، به ترتیب در زمان‌های ۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۱۴۴ و ۲۴۰ ساعت پس از کاربرد عصاره برگ *R. sachalinensis* تیمار شده نشان می‌دهند. چاهک‌های شماره ۸ تا ۱۳ وضعیت آیزوژایم‌ها را در زمان‌های فوق الذکر در برگ دوم بوته‌ای که برگ اول آن با عصاره تیمار شده نشان می‌دهند. چاهک‌های شماره ۱۵ تا ۲۰ نیز وضعیت آیزوژایم‌ها را در برگ شاهد (بدون تیمار عصاره) در همان زمان‌ها نشان می‌دهند.

(شکل‌های ۷ و ۸) ولذا عصاره برگ *R. sachalinensis* روی مقدار ترکیبات فنلی بافت خیار اثری نداشته است.

شده، در برگ اول یا برگ دوم، گرچه مقدار این ترکیبات در طول زمان نوسان کمی داشته اما روند تغییر خاصی نشان نداده

تندش اسپورها ممانعت می‌کنند. گرچه در پژوهش حاضر کاربرد این عصاره تغییر قابل توجهی در ترکیبات فنلی گیاه ایجاد نکرد.

### سپاسگزاری

این پژوهش با استفاده از امکانات گروه گیاه‌پژوهشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران انجام شده است و بدین‌وسیله از مدیر و کارکنان آن گروه تشکر می‌گردد.

براساس گزارش‌های موجود مهم‌ترین تغییرات بیوشیمیابی که این عصاره در گیاهان به وجود می‌آورد افزایش میزان کلروفیل، افزایش تولید اتیلن و افزایش فعالیت آنزیم‌های کیتیناز، بتاگلوکاناز و پراکسیداز است (۶، ۷ و ۱۶). دعیف و همکاران (۶) در پژوهش خود نتیجه گرفتند که مقاومت القا شده توسط این عصاره در برابر قارچ عامل سفیدک پودری خیار، ناشی از تولید ترکیبات فنلی ضد قارچی در برگ‌های تیمارشده است که این ترکیبات از

### منابع مورد استفاده

1. Becker, J. S., E. Marios, E. J. Huguet, S. L. Midland, J. J. Sims and N. T. Keen. 1998. Accumulation of salicylic acid and 4-hydroxybenzoic acid in phloem fluids of cucumber during systemic acquired resistance is preceded by a transient increase in phenylalanine ammonia-lyase activity in petioles and stems. *Plant Physiol.* 116: 231 – 238.
2. Bradford, M. M. 1976. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248 – 254.
3. Chen, C., R. R. Belanger, N. Benhamou and T. C. Paulitz. 2000. Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and *Pythium aphanidermatum*. *Physiol. and Mol. Plant Pathol.* 56: 13 – 23.
4. Conti, G. G., M. Bassi, D. Carminucci, L. Gatti and A. M. Bocci. 1990. Preinoculation with tobacco necrosis virus enhances peroxidase activity and lignification in cucumber, as a resistance response to *Sphaerotheca fuliginea*. *J. Phytopathol.* 128(3): 191 – 202.
5. Daayf, F., A. Schmitt and R. R. Belanger. 1995a. The effect of plant extracts of *Reynoutria sachalinensis* on powdery mildew development and leaf physiology of Long English cucumber. *Plant Dis.* 79(6): 577 – 580.
6. Daayf, F., R. R. Belanger and A. Schmitt. 1995b. Alteration of cucumber leaf physiology by treatment with extracts of *Reynoutria sachalinensis*. PP. 245 – 250. In: Lyr, H., P. E. Russel and H. D. Sisler (Eds.), Modern Fungicides and Antifungal Compounds. 11<sup>th</sup> International Reinhardtsbrunn Symposium, Friedrichroda, Thuringia, Germany, 14<sup>th</sup>-20<sup>th</sup> May 1995.
7. Daayf, F., A. Schmitt and R. R. Belanger. 1997. Evidence of phytoalexins in cucumber leaves infected with powdery mildew following treatment with leaf extracts of *Reynoutria sachalinensis*. *Plant Physiol.* 113: 719 – 727.
8. Daayf, F., M. Ongena, R. Boulanger, I. El-Hadrami and R.R. Belanger. 2000. Induction of phenolic compounds in two cultivars of cucumber by treatment of healthy and powdery mildew-infected plants with extracts of *Reynoutria sachalinensis*. *J. Chem. Ecol.* 26(7): 1579 – 1593.
9. Etebarian, H. R. 1981. Studies of host-parasite interaction between *Puccinia hodei* Otth. and *Hordeum vulgare* L. PhD. Thesis, Department of Agricultural Biology, The University of Newcastle, Upontyne.
10. Fritz, I. G., I. Feussner, W. R. Ullrich and C. Wasternack. 1995. Involvement of hydrogen peroxide and lipoxygenase forms in acquired resistance in cucumber. PP. 503 – 510. In: Lyr, H., P. E. Russel & H. D. Sisler (Eds.), Modern Fungicides and Antifungal Compounds. 11<sup>th</sup> International Reinhardtsbrunn Symposium, Friedrichroda, Thuringia, Germany, 14<sup>th</sup>-20<sup>th</sup> May.
11. Garfin, D. 1990. Methods in Enzymol. 128: 425 – 441.
12. Goodman, R. N., Z. Kiraly and K. R. Wood. 1986. The biochemistry and physiology of plant disease. University of Missouri Press., 433pp.
13. Goy, P. A., G. Felix, J. P. Metraux and Jr. F. Meins. 1992. Resistance to disease in the hybrid *Nicotiana glutinosa* XN.debneyi is associated with high constitutive levels of B-1,3-glucanase, chitinase, peroxidase and polyphenoloxidase. *Physiol. and Mol. Plant Pathol.* 41(1): 11 – 21.
14. Herger, G., F. Klingauf, D. Mangold, E. H. Pommer and M. Scherer. 1988. Efficacy of extracts of *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai against fungal diseases, especially powdery mildews. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* 40(4): 56 – 60.
15. Herger, G., I. Harvey, T. Jenkins and R. Alexander. 1989. Control of powdery mildew of grapes with plant extracts. Proceedings of the forty second New Zealand weed and pest control conference, Taranki Country Lodge, New Plymouth, August 8-10, 1989: 178 – 181.

16. Herger, G. and F. Klingauf. 1990. Control of powdery mildew fungi with extracts of the giant knotweed, *Reynoutria sachalinensis* (Polygonaceae). Mededelingen van de Faculteit landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit-Gent 55(3a): 1007 – 1014.
17. Jamali Zavareh, A. H., A. Sharifi Tehrani and M. Mohammadi. 2004a. Changes in phenolic content and specific activities of peroxidase, phenylalanine ammonia lyase and chitinase in cucumber leaves inoculated with *Podosphaera fusca*, the causal agent of powdery mildew. Commun. in Agric. and Appl. Biol. Sci. 69(4): 545 – 553.
18. Jamali Zavareh, A. H. A. Sharifi Tehrani, GH. A. Hedjaroude. J. Zad, M. Mohammadi and KH. Talebi Jahromi. 2004b. Investigation on the effectiveness of Acibenzolar-S-methyl for the control of cucumber powdery mildew. Iranian J. Agric. Sci. 35(2): 285 – 292.
19. Jennings, P. H., B. L. Brannaman and F. P. Zscheile. 1969. Peroxidase and polyphenol oxidase activity associated with *Helminthosporium* leaf spot of maize. Phytopathol. 59: 963 – 967.
20. Kerby, K. and S. Somerville. 1989. Enhancement of specific intercellular peroxidase following inoculation of barley with *Erysiphe graminis* f.sp. hordei. Physiol. and Mol. Plant Pathol. 35(4): 323 – 337.
21. Kowalewski, A. and G. Herger. 1992. Investigations about the occurrence and chemical nature of the resistance inducing factor in the extract of *Reynoutria sachalinensis*. Mededelingen van de Faculteit landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit-Gent 57(2b): 449 – 456.
22. Li, B. J. and F. Y. Li. 1998. Changes in activities and electrophoretic patterns of peroxidase and polyphenol oxidase in cucumbers during infection with *Cladosporium cucumerinum*. Scientia Agric. Sinica 31(1): 86 – 88.
23. Mohammadi, M. and H. Kazemi. 2002. Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistant wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and induced resistance. Plant Sci. 162: 491 – 498.
24. Pallas, J., N. Paiva, C. Lamb and R. Dixon. 1996. Tobacco plants epigenetically suppressed in phenylalanine ammonia-lyase expression do not develop systemic acquired resistance in response to infection by tobacco mosaic virus. Plant J. 10: 281 – 293.
25. Seevers, P. M. and J. M. Daly. 1970. Studies on wheat stem rust resistance controlled at the Sr6 locus. I. The role of phenolic compounds. Phytopathol. 60: 1322 – 1328.
26. Schmitt, A. 1996. Plant extracts as pest and disease control agents. Atti convegno internazionale, Coltivazione e miglioramento di piante officinali, Trento, Italy.
27. Schneider, S. and W. R. Ullrich. 1994. Differential induction of resistance and enhanced enzyme activities in cucumber and tobacco caused by treatment with various abiotic and biotic inducers. Physiol. and Mol. Plant Pathol. 45: 291 – 304.
28. Tyagi, M., A. M. Kayastha and B. Sinha. 1998. The role of phenolics and peroxidase in resistance to *Alternaria triticina* in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). J. Agron. and Crop Sci. 181(1): 29 – 34.
29. Wurms, K., C. Labbe, N. Benhamou and R. R. Belanger. 1999. Effects of Milsana and benzothiadiazole on the ultrastructure of powdery mildew haustoria on cucumber. Phytopathol. 89(9): 728 – 736.
30. Yamamoto, H. 1995. Pathogenesis and host-parasite specificity in rusts. 407 P. In: Kohmoto, K., V. Singh and R. P. Singh (Eds.), Plant Disease Histopathological, Biochemical, Genetic and Molecular Bases. Vol. II, Eukaryotes, Pergam.