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

عبدالحسین جمالی زواره[۱]، عباس شریفی تهرانی[۲] و مجتبی محمدی[۲]

چکیده

عصاره برگ گیاه *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai ترکیبی است که برای کنترل برخی از بیماری‌ها و به‌خصوص 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 این‌که 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 طولانی‌تر بود که احتمالاً ناشی از تعامل اثر عصاره با تنش نفوذ بیمارگر بوده است. میزان ترکیبات فنلی بافت بوته خیار تیمارشده 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

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 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 میزبان (شروع فرایند بیماری زایی) طی ۲۴ تا ۴۸ ساعت پس از مایه زنی صورت گرفت و پس از آن گسترش قارچ و کلنیزه کردن سطح بافت ادامه یافت. اولین نشانه‌های تشکیل کنیدیوفور قارچ حدود

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

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

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1386.11.41.24.1]

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 به‌عنوان 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 سمّیت مستقیمی روی ریسه‌های 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 مضمحل شده و به‌وسیله یک مادهٔ بی شکل 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 به‌نظر می‌رسد که روش تأثیر آن، بیش از آن که خاصیت قارچکشی مستقیم باشد، القای واکنش‌های دفاعی گیاه است بدین‌معنی 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 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 دورهٔ توسعهٔ بیماری بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

۱. پرورش بوته‌های خیار در گلخانه

بذر خیار رقم سوپردامینوس در خاک سترون متشکل از مقادیر مساوی خاک زراعی، ماسه و کود حیوانی کاشته شد. گلدان‌ها در گلخانه در شرایط دمایی ۲۲ تا ۲۸ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۰ تا ۸۰ درصد و دوره روشنایی 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 ۱٪ (وزن به حجم) مطابق روش کوالوسکی و هرگر (۲۱) برگ گیاه کاملاً خشک شد و به‌صورت پودر نرمی درآمد. یک گرم از این پودر به‌مدت ده دقیقه در ده میلی‌لیتر استن (CH_3COCH_3) غوطه ور شد، سپس حجم مخلوط با افزودن آب مقطر 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 مقطر غوطه ور گردید و سپس تعداد اسپور در سوسپانسیون روی ۴۰۰۰۰ اسپور در میلی‌لیتر تنظیم شد. بلافاصله با استفاده از یک افشانه دستی، سوسپانسیون روی برگ‌های مورد نظر پاشیده شد درحدی 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 برگردانده شدند. پس از ۸ تا ۱۰

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1386.11.41.24.1]

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. نیمهٔ برگ به قطعات کوچک‌تر بریده شده و از مخلوط این قطعات مقدار یک گرم بافت به‌عنوان نمونه آنزیمی یا فنلی برداشته شد (در دو تکرار). نمونه‌های گرفته شده بلافاصله به شرحی که ذکر خواهد شد عصاره‌گیری 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 روشی 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.

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 به‌شرح زیر انجام شد:

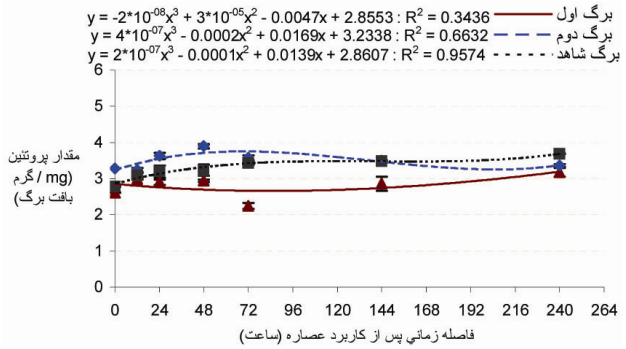
- استخراج عصاره پروتئینی نمونه گیاه به روش کِن و همکاران (۳) با استفاده از بافر فسفات سدیم؛
- استخراج عصاره فنلی نمونه گیاه به روش اعتباریان(۹) با استفاده از متانول؛
- اندازه‌گیری میزان کل پروتئین عصاره پروتئینی به روش برادفورد(۲) با استفاده از معرف برادفورد و فراکسیون IV آلبومین سرم گاوی؛
- ارزیابی 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 معرف فولین و کربنات سدیم .

۷ . بررسی آیزوزایم‌های پراکسیداز

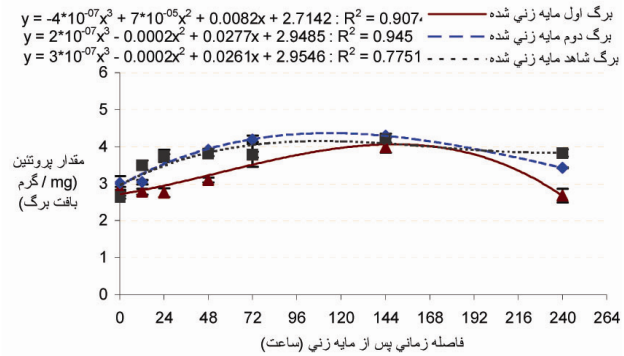
تغییر انواع و مقدار آیزوزایم‌های پراکسیداز عصارهٔ نمونه در جریان بیماری‌زایی از طریق الکتروفورز در ژل پلی اکریلامید ناواسرشت (native PAGE) با استفاده از روش گارفین (۱۱) مشخص گردید. از دستگاه الکتروفورز صفحه‌ای عمودی و منبع تغذیه پایا پژوهش مدل EPS7601 برای تهیه و اجرای ژل استفاده شد. ژل جدا کننده ۱۲٪ به ارتفاع پنج سانتی‌متر و ژل متراکم کننده ۶٪ به‌ارتفاع 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

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1386.11.41.24.1]



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



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

ولت و در ژل جداکننده برابر ۱۰۰ ولت و به مدت ۴ ساعت صورت گرفت. پس از اجرای الکتروفورز و خارج کردن صفحات ژل از قالب، رنگ آمیزی آیزوزایم‌های پراکسیداز درونژل به‌روش جنینگز و همکاران (۱۹) با تغییراتی انجام شد. بافر سیترات فسفات ۲۵ میلی‌مول (pH =۵/۴) 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 دهندهٔ آیزوزایم‌های 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 ۵٪ مقایسه گردید.

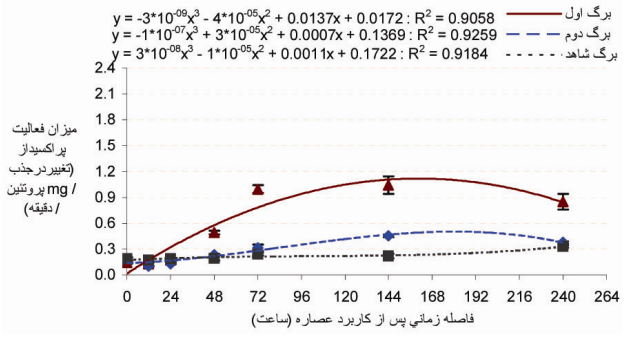
نتایج و بحث

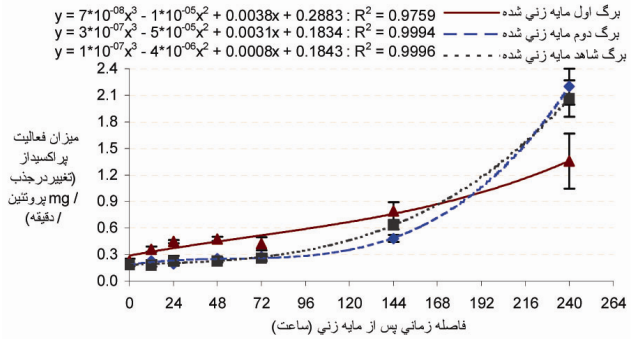
الف) پس از کاربرد عصاره برگ *R. sachalinensis* روی اولین برگ، مقدار پروتئین برگ اول و برگ دوم گیاه روند افزایش جزئی نسبت به زمان صفر نشان داد. اما در مقام مقایسه، مقدار پروتئین برگ اول عموماً از شاهد کمتر بود و به‌خصوص در گیاه سالم در ساعت ۷۲ و در بوته مایه زنی شده در ساعت ۱۲ تا ۴۸ این کاهش نسبت به شاهد 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 میزبان صورت می‌گیرد و این تحریکات ممکن است بر میزان پروتئین میزبان مؤثر باشد، اما کمتر بودن پروتئین در برگ اول به‌دلیل 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 میزبان به‌صورت 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

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1386.11.41.24.1]





شکل ۳ . نمودار تغییرات فعالیت پراکسیداز برگ خیار پس از کاربرد عصاره برگ *R. sachalinensis* روی برگ اول

شکل ۴: نمودار تغییرات فعالیت پراکسیداز برگ خیار پس از کاربرد عصاره برگ *R. sachalinensis* روی برگ اول و مایه زنی بیمارگر روی بوته

دوم با شاهد مایه زنی شده اختلاف معنی‌داری نداشت به‌طوری‌که 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 هم‌اهنگ با شاهد است. بنابراین اثر عصاره برگ *R. sachalinensis* در القای پراکسیداز در گیاه به‌صورت 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 به‌طوری‌که در ۵۰ ساعت پس از کاربرد ترکیب به حدود دو برابر رسید(۲۷).

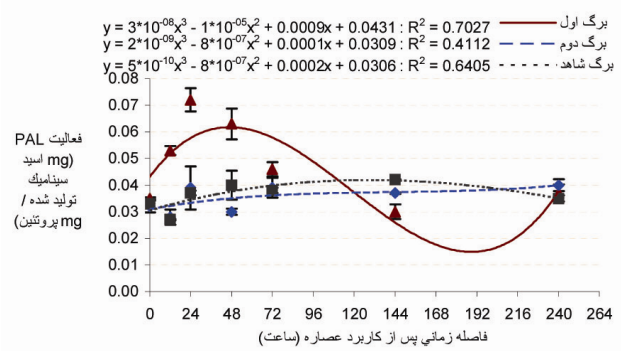
ج) در بررسی وضعیت آیزوزایم‌های پراکسیداز، چهار نوار در ژل الکتروفورز تشکیل شد (شکل ۹) که نمایانگر چهار آیزوزایم پراکسیداز بود. تیرگی آیزوزایم‌های برگ اول در بوته مایه زنی شده اختلاف محسوسی با بوته سالم نداشت اما در برگ دوم و شاهد، نوارها در بوته مایه زنی شده تیره تر بودند. در شاهد سالم تیرگی نوارها در طول زمان تغییر محسوسی نداشت ولی در سایر تیمارها معمولاً نوارها در ساعات اولیه ضعیف تر بود و به‌تدریج تیره تر شدند. نوار دوم (R_m =۴۲) و نوار سوم (R_m =۴۷) تیره تر از سایر نوارها ظاهر شد و به‌نظر می‌رسد آیزوزایم غالب باشند. هیچ آیزوزایم جدیدی در برگ‌های تیمارشده مشاهده نشد. نوارهای آیزوزایمی 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 آیزوزیم‌ها در تیمارهای مختلف با نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنزیم که در بالا اشاره شد، هم‌اهنگی 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 هم‌اهنگ با شاهد بوده و تنها در بوته مایه زنی شده در ساعات 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 بوده 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 هم‌اهنگ 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 حداکثر خود رسید و سپس به حد طبیعی کاهش یافت (۲۷) که با یافته‌های ما هم‌اهنگ است.

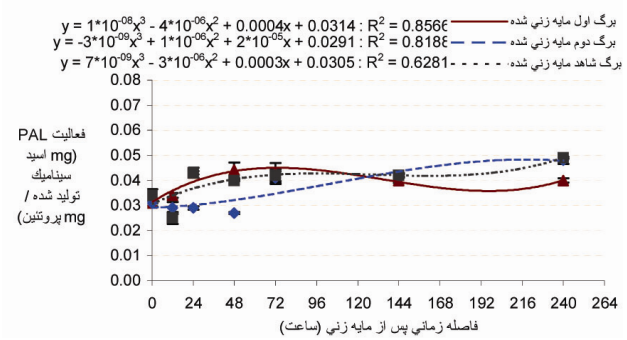
ه) بررسی مقدار ترکیبات فنلی بافت خیار تحت تیمارهای مختلف نشان داد که چه در گیاه سالم و چه در گیاه مایه زنی

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

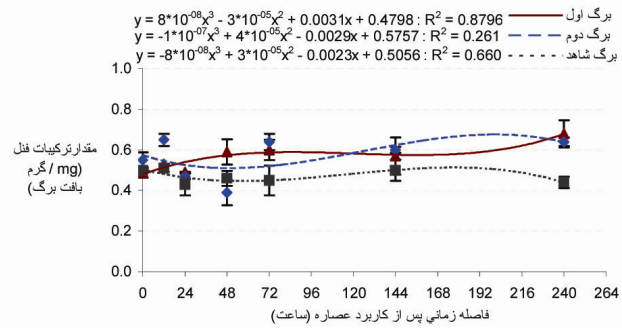
[DOR: 20.1001.1.22518517.1386.11.41.24.1]



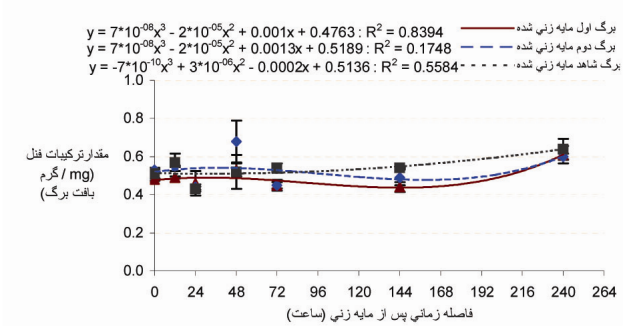
شکل ۵ . نمودار تغییرات فعالیت PAL برگ خیار پس از کاربرد عصاره برگ *R. sachalinensis* روی برگ اول



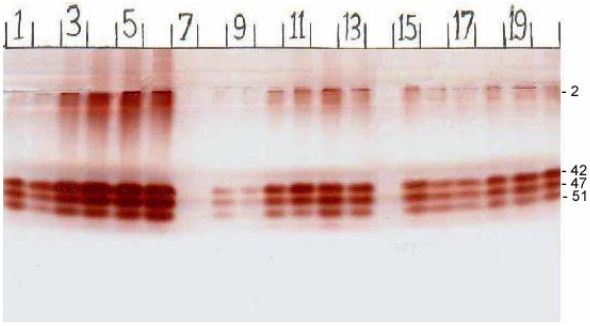
شکل ۶ . نمودار تغییرات فعالیت PAL برگ خیار پس از کاربرد عصاره برگ *R. sachalinensis* روی برگ اول و مایه زنی بیمارگر روی بوته

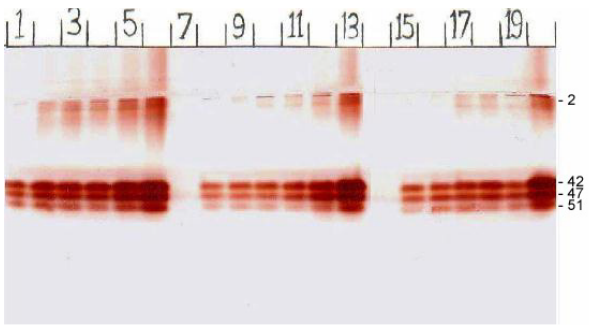


شکل ۷ . نمودار تغییرات مقدار کل ترکیبات فنل برگ خیار پس از کاربرد عصاره برگ *R. sachalinensis* روی برگ اول



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





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

تصویر قسمت راست وضعیت آیزوزایم‌ها در بوته سالم و تصویر سمت چپ وضعیت آیزوزایم‌ها دربوته مایه زنی شده با قارچ عامل سفیدک پودری خیار را نشان می‌دهد. چاهک‌های شماره ۱ تا ۶ وضعیت آیزوزایم‌ها را در برگ تیمار شده با عصاره، به‌ترتیب در زمان‌های ۰ ، ۲۴ ، ۴۸ ، ۷۲ ، ۱۴۴ و ۲۴۰ ساعت پس از کاربرد عصاره یا مایه زنی بوته نشان می‌دهند. چاهک‌های شماره ۸ تا ۱۳ وضعیت آیزوزایم‌ها 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 آیزوزایم‌ها را در برگ شاهد (بدون تیمار عصاره) در همان زمان‌ها نشان می‌دهند.

شده، در برگ اول یا برگ دوم، گرچه مقدار این ترکیبات در طول زمان نوسان کمی داشته اما روند تغییر خاصی نشان نداده (شکل‌های ۷ و ۸) و لذا عصاره برگ *R. sachalinensis* روی مقدار ترکیبات فنلی بافت خیار اثری نداشته است.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1386.11.41.24.1]

براساس گزارش‌های موجود مهم‌ترین تغییرات بیوشیمیایی که این عصاره در گیاهان به‌وجود می‌آورد افـزایش میـزان کلروفیـل، افزایش تولید اتیلن و افزایش فعالیت آنزیم‌های کیتیناز، بتاگلوکاناز و پراکـسیداز اسـت (۵، ۶، ۷ و ۱۶). دعیـف و همکـاران (۶) در پژوهش خود نتیجه گرفتند که مقاومت القا شده توسط این عصاره در برابر قارچ عامل سفیدک پودری خیار، ناشی از تولید ترکیبـات فنلی ضد قارچی در برگ‌های تیمارشده است که این ترکیبـات از تندش اسپورها ممانعت می‌کنند. گرچه در پژوهش حاضر کـاربرد این عصاره تغییر قابل توجهی در ترکیبات فنلی گیاه ایجاد نکرد.

سپاسگزاری

این پژوهش با استفاده از امکانات گروه گیـاه‌پزشـکی دانـشکده کشاورزی دانشگاه تهران انجام شده است و بدین‌وسیله از مـدیر و کارکنان آن گروه تشکر می‌گردد.

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. 11th International Reinhardsbrunn Symposium, Friedrichroda, Thuringia, Germany, 14th-20th 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. 11th International Reinhardsbrunn Symposium, Friedrichroda, Thuringia, Germany, 14th-20th 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.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1386.11.41.24.1]

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.

[Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-03-28]

[DOR: 20.1001.1.22518517.1386.11.41.24.1]