تقویت مکانیسم‌های دفاعی گیاه گوجه‌فرنگی به کمک رشد اندوفیتی قارچ‌های *Metarhizium anisopliae* و *Beauveria bassiana*: رویکردی جدید برای کنترل بیولوژیک *Tuta absoluta*

سپیده غفاری[۱]، جواد کریمی[۱]، علیرضا سیفی[۲]، منیره چنیانی[۳]

۱ گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، sepidehghaffari@gmail.com ۲ گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد. ۳ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد

چکیده

گیاهان از سیستم‌های دفاعی پیچیده در زمان تعامل با میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا برای حفظ ایمنی خود استفاده می‌کنند. ممکن است گیاه خطرات ناشی از بیمارگرهای گیاهی و گیاه‌خواران را در زمان شناسایی آن‌ها با ایجاد مسیری از واکنش‌های مؤثر در بافت‌های خود، کنترل کند. در این مطالعه، رشد سیستماتیک دو قارچ بیمارگر حشرات *Metarhizium anisopliae* و *Beauveria bassiana* به عنوان اندوفیت در بافت‌های مختلف گیاه گوجه‌فرنگی با روش اسپری‌کردن و به کمک روش کمی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (qPCR) مورد ارزیابی قرار گرفت. علاوه بر این، پاسخ سیستم ایمنی گیاه گوجه‌فرنگی در حضور و غیاب این اندوفیت‌ها به گیاه‌خوار *Tuta absol*uta با استفاده از Real-time PCR ارزیابی شد. در آزمایش اول، هر دو قارچ افزایش قابل‌توجهی را در کلونیزاسیون بافت‌های مختلف گوجه‌فرنگی بین۱۴ الی ۲۸ روز پس از تلقیح نشان دادند. این افزایش غلظت ابتدا در برگ‌ها و سپس ساقه‌ها و ریشه‌های گیاه گوجه‌فرنگی مشاهده شد. علاوه بر این، بیشترین غلظت قارچ در بافت‌های گوجه‌فرنگی کلونیزه شده توسط *M. anisopliae* به‌عنوان اندوفیت مشاهده شد. در این مطالعه، ما برای اولین‌بار مشاهده کردیم که تلقیح با قارچ‌های *M. anisopliae* و یا *B. bassiana* به طور قابل توجهی الگوی بیان ژن *TGA*، *ERF* و *PR*-10 را در مسیر هورمون‌های گیاه گوجه‌فرنگی پس از گیاه‌خواری به وسیله شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی را در مقایسه با گیاه‌های فاقد قارچ اندوفیت فعال کرد. علاوه بر این، پس از گیاه‌خواری، گیاه‌های کلونیزه شده با قارچ بیمارگر حشرات القای قوی *P450* را در مسیر فنیل پروپانوئید، به همراه سایر ژن های مرتبط با دفاع مانند *WIP*، *nsLTP* و *PRODH* در مقایسه با گوجه‌فرنگی‌های بدون اندوفیت نشان دادند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که استفاده از *M. anisopliae* و *B. bassiana* در استراتژی‌های مدیریت آفات گوجه‌فرنگی می‌تواند وابستگی به آفت‌کش‌های شیمیایی را کاهش دهد و رویکردی پایدارتر و سازگارتر با محیط‌زیست در کشاورزی را ترویج کند. این مطالعه می‌تواند مقدمه ای بر استفاده بیشتر از قارچ‌های اندوفیت در کنترل بیولوژیکی فراهم کند و به طور بالقوه این مزایا را به سایر محصولات کشاورزی و چالش‌های آفات در سیستم های کشاورزی گسترش دهد.

واژگان کلیدی: اندوفیت، قارچ بیمارگر حشرات، پاسخ ایمنی، واکنش زنجیره‌ای ریل تایم، شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی

Enhancing Tomato Defense Mechanisms Through Endophytic Colonization by *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*: A Novel Approach to Biological Control *Against Tuta absoluta*"

Sepideh Ghaffari[1], Javad Karimi[1], Monireh Cheniany[2], Alireza Seifi[3]

1 Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, sepidehghaffari@gmail.com 2 Department of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran; 3 Department of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Abstract

When plants interact with microbes, they use complex defense systems to maintain their safety. A plant may efficiently control the risks posed by phytopathogens and herbivores by triggering a cascade of effective reactions across its tissues when it recognizes them. In this study, the systematic growth of two entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*, as endophytes in different tomato plant tissues with spraying method was evaluated using quantitative real-time PCR (qPCR). Moreover, the response of tomato plant immune responses in the presence and absence of this endophyte to *Tuta absoluta* herbivory was assessed using Real-time PCR. In the first experiment, both fungi demonstrated a notable increase in the colonization of various tomato tissues between 14 and 28 days post-inoculation, with this increase in concentration appearing initially in the leaves, followed by the stems and roots of the host plant. In addition, the highest fungal concentration was observed in tomato tissues colonized by *M. anisopliae* as an endophyte. In this study, we discovered for the first time that pre-inoculation with *M. anisopliae* or *B. bassiana* significantly activated *TGA*, *ERF*, and *PR*-10, gene expression pattern in the phytohormone pathways of tomatoes after a tomato leaf miner herbivory, compared to infested plants grown in the absence of the fungus. Additionally, after herbivory, tomato-colonized plants exhibited a strong induction of *P450* in the phenylpropanoid pathway, along with other defense-related genes, such as *WIP*, *nsLTP*, and *PRODH*, compared to tomatoes without endophytes. These findings suggest that integrating *M. anisopliae* and *B. bassiana* into tomato pest management strategies can reduce reliance on chemical pesticides, promoting a more sustainable and environmentally friendly approach to agriculture. This study provides a precedent for further exploration of endophytic fungi in biological control, potentially extending these benefits to other crops and pest challenges in agricultural systems.

Keywords: endophyte, entomopathogenic fungi, immune response, Real-time PCR, Tomato leaf miner.