مقاله علمی پژوهشی
مجله دوفصل نامه
مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ۱۲، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۴۰۲
صفحه ۹۴-۸۱

https://dorl.net/dor/20.1001.1.25885073.1402.12.1.11.5

DOR:20.1001.1.25885073.1402.12.1.11.5

Research Article
Genetic Engineering and Biosafety Journal 2023
Volume 12, Number 1, Pages: 81-94

http://gebsj.ir/

https://ecc.isc.ac/showJournal/23064

تأثیر چند جدایه تریکودرما و ریزوباکتر در مهار عامل پژمردگی فوزاریومی طالبی

Effects of Some Isolates of *Trichoderma* spp. and Rhizobacteria in Control of the Causal Agent of Cantaloupe Fusarium Wilt

مریم قضاوی اصفهانی[۱]، فاطمه یوسفی کوپائی[۲*] و مریم میرطالبی[۳]
Maryam Ghazavi Esfahani[1] , Fatemeh Yousefi Kopaei[2*] and Maryam Mirtalebi[3]

۱- دانشآموخته کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، ۲- استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، ایران ۳- استادیار گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، ایران

1- Graduated Student in Plant Pathology, 2- Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Iran
3- Assistant Professor, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Shiraz University, Iran
*Corresponding Author, Email: نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی *
yousefi@sku.ac.ir
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱/۲۷ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۳/۴)

چکیده

با توجه به اهمیت مهار زیستی بیمارگرهای گیاهی، تحقیق حاضر به منظور یافتن آنتاگونیست‌هایی با خاصیت بازدارندگی روی عامل پژمردگی فوزاریومی طالبی *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (FOM) اجرا شد. ابتدا در شرایط آزمایشگاهی اثر بازدارندگی چهار جدایه تریکودرما شامل *Trichoderma harzianum* Tr3، *T. harzianum* 2، *T. longibrachiatum* و *T. asperellum* Tr14 و ۵۲ باکتری جدا شده از فراریشه گیاه تلخ‌بیان روی FOM بررسی شد. براساس نتایج سه جدایه تریکودرما و دو جدایه باکتری (B1 و B2) انتخاب و به همراه باکتری *Bacillus subtilis* MCC0067 ازنظر پتانسیل مهار بیماری پژمردگی فوزاریومی طالبی و تأثیر روی ویژگی‌های رشدی گیاه در گلخانه ارزیابی شدند. جدایه‌ها به صورت بذرمال و اضافه شدن در خاک استفاده شدند. در بررسی‌های آزمایشگاهی، در آزمون کشت متقابل، درصد بازدارندگی جدایه‌های تریکودرما به‌طور تقریبی از ٦٢ تا ٧٥ درصد و بازدارندگی جدایه‌های باکتری منتخب از ٤٦ تا٦٠ درصد متغیر بود. در شرایط گلخانه جدایه‌های آنتاگونیست قادر به ممانعت از وقوع بیماری پژمردگی فوزاریومی روی طالبی نبودند ولی باعث تاخیر در شروع بیماری و کندتر شدن روند پیشروی شدند. در زمان ٤٠ روز بعد از کشت شدت بیماری در تیمارهای حامل *T. harzianum* Tr3 و *T. longibrachiatum* به طور معنی‌دار کمتر از سایرین بود. آنتاگونیست‌ها تأثیر معنی‌داری در افزایش طول ریشه نداشتند ولی باعث افزایش حجم ریشه شدند. تاثیر آن‌ها در سایر شاخص‌های رشدی متفاوت بود. به‌طور کلی، در افزایش شاخص‌های رشدی، باکتری B2 و در مهار بیماری در گلخانه قارچ‌های *T. harzianum* Tr3 و *T. longibrachiatum* موثرترین تیمارها بودند.

واژه‌های کلیدی

آنتاگونیست،
بازدارندگی از رشد،
شدت بیماری،
مهار زیستی

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.11.5]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 12, Number 1, 2023

Abstract

Regarding the importance of biological control of plant pathogens, the present research was aimed to find antagonists with inhibitory effects on the causal agent of Cantaloupe Fusarium wilt, *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (FOM). At first, the inhibitory effect of four isolates of *Trichoderma* (including *Trichoderma harzianum* Tr3, *T. harzianum* 2, *T. longibrachiatum* and *T. asperellum* Tr14) and 52 bacteria (isolated from rhizosphere of *Sophora alopecuroides*) against FOM was investigated in laboratory conditions. Based on the results, three isoaltes of *Trichoderma* and two bacterial isolates (B1 and B2) were selected and along with *Bacillus subtilis* MCC0067 were assayed in green house experiments. The antagonists were applied on seed and in the soil and their potential for control of Cantaloupe Fusarium wilt and plant growth promotion were evaluated. In dual culture assay, the growth inhibition percentage of *Trichoderma* isoaltes varied from 62 to 75% and of bacterial isoaltes varied from 46 to 60%. In greenhouse conditions, the antagonist isolates were not able to prevent the incidence of Fusarium wilt disease on cantaloupe; but they delayed the onset of the disease and reduced disease progression. In 40 days after planting, the disease severity in *T. harzianum* Tr3 and *T. longibrachiatum* treatments was significantly lower than the others. The antagonists had no significant effect on increasing root length but they triggered an increase in root volume. Their effect on other indices was different. In general, B2 and the isolates of *T. harzianum* Tr3 and *T. longibrachiatum* treatmens were the most effective treatments in increasing growth indices and in control of disease, respectively.

Key words: Antagonist, Growth inhibition, Biocontrol, Disease severity

مقدمه

یکی از چالش‌های تولید محصول‌های کشاورزی، خسارت ناشی از حمله بیمارگرهای گیاهی به ویژه قارچ‌ها به آنها است. خانواده کدوئیان (Cucurbitaceae) شامل چندین گونه گیاهی اقتصادی بسیار مهم از جمله طالبی (*Cucumis melo* L.) می‌باشد (Ritschel *et al*., 2004). از بیماریهای مهم خربزه و طالبی پژمردگی فوزاریومی است که توسط *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (FOM) ایجاد می‌شود. بقای این قارچ در خاک به علت تولید کلامیدوسپور و کلونیزه کردن بقایای گیاهی و ریشه گیاهان غیرحساس نامحدود است (Zuniga *et al*., 1997). *F. oxysporum* عامل بروز بیماری پژمردگی در بسیاری از گیاهان می‌باشد. مهمترین نشانه پژمردگی فوزاریومی زرد شدن و پژمردگی بوته است. این بیماری می‌تواند در هر مرحله از رشد گیاه ظاهر شود. هرچه عامل بیمارگر به گیاه جوان‌تر حمله کند خسارت بیشتری به محصول وارد می‌شود. بیماری به مرور پیشرفت کرده و باعث رنگ‌پریدگی و زردی برگها و توقف رشد گیاه می‌شود. به مرور زمان بسیاری از گیاهان بیمار از پا در آمده و می‌میرند، در حالی که برخی دیگر زنده می‌مانند و تعداد کمی گل یا میوه تولید می‌کنند.

مبارزه با بیماری پژمردگی فوزاریومی دشوار است و تاکنون مبارزه شیمیایی مؤثری برای این بیماری وجود نداشته است. مهار زیستی از جمله روش‌های بهینه مدیریت بیماری است که خطر کمتری برای سلامت انسان دارد و با اهداف زیست‌محیطی همسو است. به همین دلیل شناسایی عوامل آنتاگونیست امری مهم است که می‌تواند به تولید یک عامل مهار زیستی منتهی شود. پژوهش‌های زیادی روی کاربرد گونه‌های جنس تریکودرما در مهار بیمارگرهای مختلف گیاهی در دنیا انجام شده است. گونه‌های تریکودرما روی انواع بیمارگرها از قبیل *Rhizoctonia solani*، *Fusarium oxysporum*، *Sclerotinia sclerotiorum*، *cinerea Botrytis* و *Colletotrichum* spp. به میزان متفاوت اثربازدارندگی دارند (Yao *et al*., 2023). سویه‌های تریکودرما با روش‌های مختلف از جمله مایکوپارازیتیسم، ترشح متابولیت‌های ثانویه، ترشح آنتی‌بیوتیک، رقابت برای تصاحب غذا و مکان و القای پاسخ دفاعی گیاه در مهار بیمارگرها عمل می‌کنند (Asad, 2022;

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.11.5]

(Yao *et al.*, 2023). باکتری‌های تقویت‌کننده رشد گزینه‌های امیدبخش برای استفاده به عنوان عوامل مهار زیستی هستند. سازوکار مهار زیستی آن‌ها شامل تولید ترکیبات ضدقارچی، رقابت برای مواد غذایی و مکان، تولید سیدروفور و ایجاد مقاومت القایی در گیاه (induced resistance) می‌باشد (Wang *et al.*, 2021). از باکتری‌های تقویت‌کننده رشد که به عنوان عوامل مهار زیستی بیمارگرهای مختلف به کار برده شده‌اند، می‌توان به جنس‌های *Bacillus* و *Pseudomonas* اشاره نمود (Lahlali *et al.*, 2022). باکتری‌های ساکن فراریشه منبع غنی باکتریهای تقویت‌کننده رشد هستند (Antoun and kloepper, 2001) و گزارش‌های بسیاری در زمینه بررسی کارایی و سازوکار عمل آن‌ها در تقویت رشد گیاه و مهار زیستی انواع بیمارگرها انتشار یافته است.

پژوهش حاضر با هدف یافتن آنتاگونیست‌هایی با خاصیت بازدارندگی روی عامل پژمردگی فوزاریومی طالبی انجام شد. بدین منظور تأثیر کاربرد چند باکتری جدا شده از ریزوسفر تلخ‌بیان (*Sophora alopecuroides*) و جدایه‌هایی از تریکودرما در مهار عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی طالبی در آزمایشگاه و گلخانه بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه جدایه بیمارگر: دو جدایهٔ عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی طالبی (FOM) از مجموعه‌ی قارچ‌های بخش گیاه‌پزشکی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه شیراز دریافت شد. این جدایه‌ها به نامهای M و F نامگذاری شدند.

آزمون بیماری‌زایی جدایه‌های قارچ بیمارگر: بیماری‌زایی هر دو جدایه فوزاریوم با روش فرو بردن ریشه‌ی گیاهچه‌ها در سوسپانسیون اسپور مورد بررسی قرار گرفت. به طور خلاصه، بذور طالبی در ماسه سترون کشت شدند. در مرحله چهار برگی، بوته‌ها از ماسه خارج و به منظور ایجاد زخم تعدادی از ریشه‌های آنها با قیچی کوتاه شد. ریشه‌ها به مدت یک دقیقه در سوسپانسیون اسپور قارچ بیمارگر (با غلظت تقریبا 10^6 اسپور در میلی‌لیتر) فرو برده شدند و در گلدان حاوی خاک سترون کشت شدند. برای گیاهچه‌های شاهد از آب مقطر سترون استفاده شد (Burger *et al.*, 2003). بعد از ظهور علائم بیماری، جداسازی مجدد عامل بیماری انجام گرفت.

تهیه جدایه‌های آنتاگونیست: جدایه *Bacillus subtilis* MCC0067 و ۵۲ جدایه باکتری جدا شده از ریزوسفر تلخ‌بیان موجود در آزمایشگاه بیماری‌های گیاهی دانشگاه شهرکرد روی محیط کشت آگار مغذی بازکشت شدند. دو جدایه *Trichoderma harzianum* 2 و *T. longibrachiatum* از آزمایشگاه بیماری‌های گیاهی دانشگاه شهرکرد و دو جدایه *T. harzianum* TR3 و *T. asperellum* Tr14 از بخش گیاه‌پزشکی دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه شیراز تهیه و روی محیط کشت PDA تکثیر شدند.

بررسی تأثیر جدایه‌های تریکودرما روی رشد پرگنه‌ی عامل بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاه

آزمون کشت متقابل جدایه‌های تریکودرما و بیمارگر: جهت انجام این آزمون، در تشتک‌های پتری حاوی محیط PDA، قرص‌های پنج میلی‌متری از کشت پنج روزه‌ی بیمارگر و در مقابل آن قرص پنج میلی‌متری از کشت دو روزه تریکودرما قرار داده شد و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. در نمونه شاهد به‌جای قرص تریکودرما، قرص پنج میلی‌متری از محیط‌کشت PDA استفاده شد. وقتی در نمونه شاهد ریسه‌های قارچ بیمارگر به انتهای تشتک پتری رسید، میزان رشد شعاعی بیمارگر در کشت‌های مقابل با جدایه‌های تریکودرما اندازه‌گیری شد (Dennis and Webster, 1971). درصد بازدارندگی طبق رابطه ۱ محاسبه شد (Hagedorn *et al.*, 1989).

$$GI = \frac{(C - T)}{C} * 100$$ رابطه ۱:

در رابطه فوق، GI، C و T به ترتیب درصد بازدارندگی از رشد، قطر **پرگنه** بیمارگر در شاهد و قطر **پرگنه** بیمارگر در مقابل آنتاگونیست می‌باشند.

آزمون تولید ترکیبات فرّار ضدقارچی توسط جدایه‌های تریکودرما: ابتدا قرصی به‌قطر پنج میلی‌متر از کشت تریکودرما در وسط تشتک پتری حاوی محیط کشت PDA قرار داده شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، یک قرص پنج میلی‌متری از کشت عامل

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.11.5]

بیماری‌زا در وسط تشتک پتری دیگری قرار داده شد. در شرایط سترون درپوش تشتک‌های پتری حاوی جدایه‌ی تریکودرما و عامل بیماری‌زا برداشته شد و تشتک‌ها به‌صورت وارونه روی هم قرار داده شدند و فاصله بین آنها با نوار پارافیلم پوشانده شد. در تشتک پتری شاهد به جای قرص تریکودرما از قرص محیط کشت PDA استفاده شد. نمونه‌ها تا زمان پر شدن تشتک پتری شاهد در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند (Ashrafizadeh *et al*., 2002). درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌های عامل بیماری‌زا توسط ترکیبات فرّار مطابق رابطه ۱ محاسبه شد.

بررسی اثر بازدارندگی باکتری‌ها روی رشد پرگنه‌ی عامل بیماری‌زا در شرایط آزمایشگاه

آزمون کشت متقابل: به منظور انتخاب جدایه‌های دارای خاصیت آنتاگونیستی روی بیمارگر، ۵۲ جدایه‌ی باکتری جداشده از ریزوسفر گیاه تلخ‌بیان و جدایه *B. subtilis* MCC0067 که به عنوان یک عامل مهار زیستی شناخته شده است، در آزمون کشت متقابل مورد بررسی قرار گرفتند. بدین منظور، در مرکز محیط کشت PDA، یک قرص پنج میلی‌متری از کشت عامل بیماری (جدایه M) قرار گرفت و جدایه‌های باکتری در اطراف آن، به فاصله‌های معین، به‌صورت خطی کشت و در دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس نگهداری شدند. در کشت شاهد به‌جای باکتری آب مقطر سترون قرار داده شد. میزان رشد قارچ روزانه بررسی و شعاع پرگنه در شاهد با شعاع پرگنه در مقابل جدایه‌های باکتری، مورد مقایسه چشمی قرار گرفت (Hagedorn *et al*., 1989). میزان رشد قارچ در شاهد و در مقابل مؤثرترین جدایه‌ها که اثر بازدارندگی کاملا محسوس داشتند (دو جدایه B1 و B2 و *Bacillus subtilis* MCC0067)، اندازه‌گیری و مورد مقایسه آماری قرار گرفت. این جدایه‌ها از نظر پتانسیل مهار زیستی فوزاریوم و توان افزایش رشد گیاه در گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفتند.

جهت تعیین مکانیسم‌های احتمالی تأثیر جدایه‌های باکتریایی منتخب، آزمون نشت مواد ضدمیکروبی در آگار و تولید ترکیبات فرّار انجام شد که در زیر تشریح می‌شود.

آزمون بررسی تولید مواد ضدمیکروبی قابل نشت در آگار توسط جدایه‌های باکتریایی منتخب: در این آزمون، ابتدا از کشت جوان جدایه‌ی باکتری سوسپانسیونی با غلظت $۱۰^{۷}$CFU/ml (OD_{600} =۰/۲) تهیه و ۲۰۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون در سطح محیط کشت PDA پخش شد. در تیمار شاهد از آب مقطر سترون استفاده شد. نمونه‌ها به مدت سه روز در دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس نگهداری شدند. سپس پرگنه باکتری از روی سطح تشتک پتری با پنبه سترون پاک شد و جهت از بین رفتن سلول‌های باقی‌مانده، محیط کشت به مدت ۳۰ دقیقه در معرض بخار کلروفرم قرار داده شد. پس از ۳۰ دقیقه هوادهی، یک بلوک به قطر پنج میلی‌متر از حاشیه کشت جوان عامل بیماری (جدایه M) در وسط آن گذاشته شد. نمونه‌ها تا زمان پرشدن تشتک پتری شاهد در دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس نگهداری شدند (Kraus and Loper, 1992). میزان بازدارندگی نمونه‌های باکتری از رشد پرگنه‌ی بیمارگر با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد.

بررسی تولید ترکیبات فرّار ضد قارچی توسط جدایه‌های باکتریایی منتخب: ابتدا از کشت باکتری سوسپانسیونی به غلظت تقریبی $۱۰^{۷}$ CFU/ml (OD_{600}=۰/۲) در آب مقطر سترون تهیه و ۲۰۰ میکرولیتر آن روی تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت آگار غذایی پخش شد. نمونه‌ها به‌مدت ۲٤ ساعت در دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس نگهداری شدند. در تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. سپس از حاشیه کشت عامل بیماری، قطعه‌ای به قطر پنج میلی‌متر در وسط تشتک پتری محیط PDA قرار داده شد. در شرایط سترون، درپوش کشت باکتری و عامل بیماری برداشته شد و تشتک‌ها روی هم قرار داده شد و با نوار پارافیلم فاصله بین آنها مسدود شد. نمونه‌ها تا زمان پرشدن تشتک پتری شاهد در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند (Fiddaman and Rossall, 1993). درصد بازدارندگی رشد پرگنه‌ی بیمارگر با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد.

تمام آزمایش‌های ذکر شده در قالب طرح کاملا تصادفی و در سه تکرار انجام شد.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.11.5]

تأثیر جدایه‌های تریکودرما و باکتری در کنترل بیماری پژمردگی فوزاریومی طالبی در شرایط گلخانه

این بررسی در گلخانه با ١٤ تیمار و چهار تکرار انجام شد. آنتاگونیست‌های مورد استفاده در گلخانه شامل *T. longibrachiatum*، *T. asperellum* Tr14، *T. harzianum* Tr3، باکتری B1، باکتری B2 و باکتری *B. subtilis* MCC0067 بودند. تیمارها شامل استفاده از آنتاگونیست همراه با مایه‌زنی بیمارگر به خاک، استفاده از آنتاگونیست بدون آلوده‌سازی خاک با بیمارگر، شاهد سالم بدون استفاده از آنتاگونیست و تیمار شاهد آلوده به بیمارگر بدون استفاده از آنتاگونیست بودند (جدول ٤). آلوده‌سازی خاک با جدایه M قارچ بیمارگر انجام شد.

الف) تکثیر **زادمایه‌های** ***Trichoderma* spp.**: ابتدا مقدار ١٥٠ گرم گندم شستشو و به مدت ٢٤ ساعت در آب خیسانده شد. گندم‌ها به ارلن‌مایر منتقل و در سه نوبت (یک روز در میان) در دمای ١٢١ درجه‌ی سلسیوس به مدت ٣٠ دقیقه در اتوکلاو سترون شد. داخل هر ارلن‌مایر سه قرص پنج میلی‌متری از کشت جوان تریکودرما (سه روزه) منتقل شد و به مدت ٢١ روز در دمای ٢٥ درجه سلسیوس قرار گرفت (Elad *et al.*, 1980). گندم‌های کلونیزه شده با قارچ در دستگاه خردکن ریز شدند. بذرهای طالبی بعد از ضدعفونی با ماده سفیدکننده خانگی ١٠ درصد و شست‌وشو با آب مقطر سترون، با فروبردن در زادمایه حاصل تیمار شدند (Ashrafizadeh *et al.*, 2002). به ازای هر کیلوگرم خاک نیز میزان ١٠ گرم از بذور گندم آغشته به تریکودرما اضافه شد (Frommel *et al.*, 1991).

ب) تکثیر جدایه‌های **باکتری:** در بررسی کارایی باکتری‌ها در کنترل بیماری پژمردگی فوزاریومی طالبی در شرایط گلخانه، دو سویه باکتریایی B1 و B2 جدا شده از ریزوسفر گیاه تلخ‌بیان و *Bacillus subtilis* MCC0067 که در بررسی‌های آزمایشگاهی قدرت بازدارندگی آنها تأیید شده بود، انتخاب شدند. تهیه‌ی زادمایه‌ی باکتری آنتاگونیست به روش ولر و کوک (Weller and Cook, 1983) انجام شد. ابتدا از کشت ٢٤ ساعته جدایه‌های باکتری روی محیط کشت NA (nutrient agar) سوسپانسیونی در آب مقطر سترون تهیه شد. تلقیح سوسپانسیون باکتری به‌صورت آغشته‌سازی با خاک و مایه‌زنی بذر انجام شد. با توجه به اینکه برای هر گرم خاک میزان 1×10^{7} CFU/ml باکتری لازم است، ابتدا بر اساس وزن خاک مورد استفاده برای تیمارهای باکتریایی، جمعیت مورد نیاز باکتری تهیه و به حجم خاک مورد نظر اضافه شد (Jamali *et al.*, 2005). جهت مایه‌زنی بذر، ابتدا بذور طالبی با ماده سفیدکننده خانگی ١٠ درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی شده و سپس با آب مقطر شسته شدند. بذور به مدت ١٥ دقیقه در سوسپانسیون باکتری با غلظت حدود 10^{7} CFU/ml خیسانده شده و سپس در بستر مورد نظر کشت شدند (Abeysinghe, 2007).

ج) تهیه‌ی زادمایه‌ی **قارچ** عامل بیماری: برای تهیه‌ی زادمایه‌ی قارچ عامل بیماری ابتدا بذور گندم شست‌وشو داده شدند. ١٠٠ گرم بذر گندم به همراه ١٠٠ میلی‌لیتر آب مقطر در داخل ارلن‌مایر ریخته شد و بعد از یک روز در سه نوبت (یک روز در میان) به مدت ٣٠ دقیقه در اتوکلاو سترون شد. با رعایت شرایط سترون، سه قرص پنج میلی‌متری از کشت جوان (سه روزه) قارچ عامل بیماری به هر ارلن‌مایر اضافه شد و به‌مدت چهار هفته در دمای ٢٥ درجه‌ی سلسیوس نگهداری شدند. به ازای هر کیلوگرم خاک، میزان ١٥ گرم از بذور گندم آلوده به فوزاریوم اضافه شد. در تیمارهای بدون مایه‌زنی بیمارگر به همان میزان گندم سترون اضافه شد. برای پر کردن گلدانها از خاک مزرعه که سه مرتبه با فاصله‌ی زمانی ٢٤ ساعت در اتوکلاو ضدعفونی شده بود، استفاده شد (Frommel *et al.*, 1991).

د) کشت گیاهان در گلخانه: در این پژوهش از گلدان‌هایی با اندازه‌های ١٦ × ١٥ سانتی‌متر و با حجم دو کیلوگرم استفاده شد. یک سوم کف هر گلدان خاک سترون اضافه شد. در یک سوم میانی، در تیمارهای آلوده، خاک حاوی گندم کلونیزه شده با قارچ بیمارگر و در تیمارهای بدون حضور بیمارگر خاک حاوی گندم سترون اضافه شد. یک سوم حجم بالایی گلدان‌ها با خاک تیمار شده با آنتاگونیست‌ها پر شد. در هر گلدان، شش بذر در عمق دو سانتی‌متر کشت شد و بعد از سبز شدن، چهار بوته نگهداری شد. در طول اجرای آزمایش شدت بیماری در تیمارها ارزیابی شد.

د) ارزیابی شدت بیماری: از همان هفته‌های آغازین بعد از کشت، بوته‌ها از نظر بروز علائم بیماری مورد بررسی قرار

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.11.5]

گرفتند. شدت بیماری در دو زمان ۳۰ و ٤۰ روز بعد از کشت، با روش نمره‌دهی از یک تا پنج به شرح زیر ارزیابی شد. ۱: بدون علایم بیماری، ۲: زردی و پژمردگی کوتیلدون یا برگ اول، ۳: زردی و پژمردگی در دو برگ، ٤: زردی و پژمردگی در سه و یا تعداد بیشتری از برگها و ۵: مرگ گیاهچه (Perchepied and Pitrat, 2004).

ه) **بررسی ویژگی‌های رشدی بوته‌ها:** ۷۰ روز بعد از کشت بوته‌ها برداشت شد و ویژگی‌های رشدی آنها شامل طول و وزن تر و خشک ریشه و ساقه و حجم ریشه اندازه‌گیری شد. برای تعیین طول ساقه، از ابتدای ساقه تا گره مربوط به آخرین دمبرگ اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

آزمون بیماریزایی *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* در شرایط گلخانه در آزمون بیماری‌زایی، هر دو جدایه بیمارگر مورد بررسی منجر به بروز علائم پژمردگی شدند (شکل ۱). شدت علائم در جدایه M بیشتر بود به همین دلیل برای اجرای آزمایش در گلخانه جدایه M انتخاب شد. در جداسازی مجدد، میسلیوم‌های قارچ مایه‌زنی شده از بافت‌های کشت شده رشد نمود که نشانه‌ی کلونیزه شدن بافت ساقه گیاه توسط قارچ می‌باشد.

شکل ۱- بروز علائم بیماری در گیاه مایه‌زنی شده با قارچ بیمارگر *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* ده روز پس از مایه‌زنی (راست) در مقایسه با گیاه شاهد مایه زنی شده با آب (چپ)

Fig1. Appearance of disease symptoms in plants inoculated by *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*,10 days after inoculation (right) comparing with control group inoculated with sterile distilled water (left)

تأثیر جدایه‌های تریکودرما بر رشد جدایه‌های *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* در شرایط آزمایشگاه

در آزمون کشت متقابل، هر چهار جدایه تریکودرما با کلونیزه کردن محیط‌کشت مانع پیشروی قارچ بیمارگر شدند. با گذشت زمان ریسه‌های تریکودرما از روی ریسه‌های قارچ بیمارگر عبور کرده و تا قسمتهای خالی اطراف قرص کشت شده پیشروی نمودند. تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر اثر معنی‌دار (در سطح یک درصد) گونه‌های تریکودرما در کاهش رشد هر دو جدایه قارچ FOM در کشت متقابل است. جدول ۱ میانگین میزان رشد جدایه‌های قارچ بیمارگر در مقابل تیمارهای تریکودرما و تیمار شاهد را نشان می‌دهد. درصد بازدارندگی سویه‌های *T. harziaunm* Tr3، *T. harzianum* 2، *T. longibrachiatum* و *T. asperellum* Tr14 از رشد FOM ۷۲ ساعت بعد از کشت در مقابل جدایه F به ترتیب ۷۲٪، ۷۰/۷٪، ۷۲/۲٪ و ۷٤/۷٪ و در مقابل جدایه M به ترتیب ۷۲/۷٪، ۷۲/۷٪، ٦۷/۷٪ و ٦۲/۲۲٪ ارزیابی شد.

در آزمون تولید ترکیبات فرّار ضدقارچی، تجزیه واریانس داده‌ها بیانگر معنی‌دار بودن تأثیر ترکیب‌های فرّار حاصل از جدایه‌های تریکودرما در بازدارندگی از رشد پرگنه‌ی عامل بیماری‌زا در سطح یک درصد بود. میزان کاهش رشد قارچ بیمارگر (جدایه M) در برابر قارچ‌های *Trichoderma harzianum* Tr3، *Trichoderma harzianum* 2، *T. longibrachiatum* و *T. asperellum* Tr14 در ٤۸ ساعت پس از کشت به ترتیب برابر با ۲۳/۹، ۲۱، ۲۵ و ۳۱ درصد بود و در ۷۲ ساعت به ۳۹/۵، ۳٤/٦، ۳۵ و ٤۲ درصد افزایش یافت. میانگین میزان رشد جدایه‌های قارچ بیمارگر در این زمانها در جدول ۱ ذکر شده است. در روش کشت متقابل، میزان رشد قارچ بیمارگر در مقابل جدایه‌های مختلف تریکودرما اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ولی در آزمون تولید ترکیبات فرّار، میزان رشد آن در تیمار *T. asperellum* Tr14 به‌طور معنی‌دار کمتر از سایر تیمارها بود (جدول۱).

اثر بازدارندگی جدایه‌های باکتریایی روی رشد پرگنه‌ی بیمارگر در شرایط آزمایشگاه

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.11.5]

نتیجه تجزیه واریانس داده‌های مربوط به بررسی میزان رشد ریسه جدایه M قارچ بیمارگر FOM در کشت متقابل با سویه‌های باکتریایی، بیانگر اثر معنی‌دار باکتری‌ها در بازدارندگی از رشد قارچ می‌باشد. بین میزان رشد قارچ بیمارگر در مقابل جدایه‌های مختلف باکتری، اختلاف معنی‌دار وجود نداشت (جدول ۲).

در آزمون بررسی اثر ترکیبات قابل نفوذ در آگار، میزان رشد قارچ بیمارگر در مقابل سویه‌های باکتری با شاهد اختلاف معنی‌داری داشت. هر سه جدایه‌ی باکتریایی بر رشد عامل بیماری‌زا تأثیر بازدارنده داشتند. به نظر می‌رسد جدایه‌های باکتریایی با تولید ترکیبات خارج سلولی ضدقارچی از رشد میسلیوم‌های قارچ FOM جلوگیری نمودند. دو جدایه باکتریایی B1 و B2 نسبت به *B. subtilis* MCC0067 توان بازدارندگی بیشتری نشان دادند (جدول۲).

در آزمون بررسی تولید ترکیبات فرّار ضد قارچی توسط باکتری‌ها در آزمایشگاه، هیچ‌کدام از نمونه‌ها تأثیر معنی‌داری در جلوگیری از رشد پرگنه قارچ بیمارگر نداشتند. در هر سه جدایه باکتریایی، در مدت چهار روز فضای تشتک پتری توسط ریسه‌های قارچ بیمارگر پر شد و با تشتک پتری شاهد اختلاف معنی‌دار نداشتند (جدول۲).

جدول۱- مقایسه میانگین میزان رشد قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (جدایه‌های F و M) در مقابل جدایه‌های مختلف تریکودرما در روش کشت متقابل و تولید ترکیب‌های فرّار ٤٨ و ٧٢ ساعت بعد از کشت (در مقیاس سانتی‌متر).

Table 1. Comparison of the mean growth (cm) of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (F and M isolates) against different isolates of *Trichoderma* spp. in the tests of dual culture and production of antifungal volatile metabolites 48 and 72 hours after incubation

Treatment	F	M		
	Dual culture (cm)	Dual culture (cm)	volatile metabolite 48 hours after culture	volatile metabolite 72 hours after culture
control	6 a	6 a	3.38 a	6 a
T. harzianum Tr3	1.675 b	1.633 b	2.57 b	3.633 bc
T. harzianum 2	1.758 b	1.633 b	2.67 b	3.92 b
T. longibrachiatum	1.667 b	1.933 b	2.53 b	3.9 b
T. asperellum Tr14	1.517 b	2.266 b	2.32 c	3.467 c
LSD	0.3003	0.753	0.1742	0.423

میانگین‌های دارای حروف مشترک در یک ستون براساس آزمون LSD در سطح یک درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند. اعداد جدول، میانگین سه تکرار هستند.

Treatments that have same letters in one column, are not significantly different in LSD test (P=0.01). Table numbers are the average of three replicates.

جدول۲- مقایسه میانگین رشد (cm) قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (جدایه M) در مقابل آنتاگونیست‌های باکتریایی در روش‌های کشت متقابل و تولید ترکیبات ضدقارچی فرار و قابل نفوذ ۵ روز بعد از کشت

Table 2. Mean comparison of the growth (cm) of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* (M isolate) against bacterial antagonists in the tests of dual culture and production of volatile and diffusible antifungal compounds 5 days after incubation

Treatment	dual culture	volatile metabolites	agar diffusible metabolites
control	6a	6a	6a
B1	2.983 b	5.5a	0.0 c
B2	2.55 b	5.25 a	0.5 c
Bacillus subtilis MCC0067	2.633 b	5.083 a	2.05 b
LSD	0.488	1.653	0.9308

در هر ستون تیمارهای دارای حروف مشترک با آزمون LSD در سطح یک درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند. اعداد جدول، میانگین سه تکرار هستند.

Means with the same letter are not significantly different from each other according to LSD test (p=0.01). Each number is the mean of three replicates.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.11.5]

جدول ۳- مقایسه میانگین درجه شدت بیماری در تیمارهای مختلف آلوده بـه *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (FOM) ۳۰ و ٤۰ روز پـس از کشـت براسـاس سیستم نمره‌دهی (Perchepied and Pitrat 2004)

Table 3. The mean of diseases severity grade in treatments infected with *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (FOM) in 30 and 40 days after planting (Perchepied and Pitrat 2004)

treatment	30 days after planting	40 days after planting
FOM	5a	5a
FOM+*T. harzianum* Tr3	1d	3c
FOM+*T. longibrachiatum*	2cd	3c
FOM+*T. asperellum* Tr14	3bc	4b
FOM+B1	4ab	5a
FOM+B2	3bc	4b
FOM+*Bacillus subtilis* MCC0067	4ab	5a

در هر ستون تیمارهای دارای حروف مشترک با آزمون LSD در سطح پنج درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند. هر عدد میانگین نمره شدت بیماری تمام بوته‌های هر تیمار می‌باشد.

Means with the same letter are not significantly different from each other according to LSD test (p=0.05). Each number is the mean of the grades of disease severity of all plants of each treatment

تأثیر آنتاگونیست‌ها بر بیماری پژمردگی فوزاریومی طالبی در شرایط گلخانه

چهار روز پس از کشت بذور طالبی، جوانه‌ها در سطح خاک مشاهده شدند. گیاهچه‌های تیمار شاهد آلوده طی یک هفته تا ده روز خشک شدند، در صورتی‌که اولین علائم بیماری در تیمارهای حاوی آنتاگونیست، از هفته سوم پس از کشت مشاهده شد. با گذشت زمان بیماری پیشرفت کرد و بوته‌ها قبل از رسیدن به مرحله گلدهی خشک شدند (درجه ۵ بیماری‌زایی). هرچند آنتاگونیست‌ها نتوانستند مانع از وقوع بیماری شوند، ولی در این تیمارها بیماری دیرتر ظاهر شد و سرعت پیشرفت بیماری کمتر بود. پیشرفت بیماری در تیمارهای آلوده‌ی حامل تریکودرما نسبت به تیمارهای باکتریایی کندتر بود. سی روز بعد از کشت، میانگین شدت بیماری در تیمارهای *T. harzianum* Tr3 و *T. longibrachiatum* به ترتیب یک و دو بود در حالی که در همین زمان، شدت بیماری در تیمارهای حاوی باکتری‌های B1 و *B. subtilis* MCC0067، چهار ارزیابی شد. چهل روز بعد از کشت نیز شدت بیماری در تیمارهای *T. harzianum* Tr3 و *T. longibrachiatum* کمتراز سایر آنتاگونیست‌ها بود. در این زمان، شدت بیماری در تیمار حاوی باکتری B2 معادل تیمار حاوی *T. asperellum* Tr14 و کمتر از تیمار حاوی B1 و *B. subtilis* MCC0067 بود (جدول ۳).

تأثیر آنتاگونیست‌ها بر ویژگی‌های رشدی گیاه در شرایط گلخانه

جدول ٤ مقایسه میانگین صفات رشدی گیاه طالبی در تیمارهای مختلف با استفاده از آزمون LSD را نشان می‌دهد.

در تیمارهای فاقد بیمارگر، برخی از آنتاگونیست‌های مورد استفاده، باعث افزایش طول ساقه شدند. بیشترین طول ساقه در تیمارهای *T. harzianum* Tr3، *T. longibrachiatum* و B2 به ترتیب با مقدار ۳۰/۳، ۲۸/۱۸ و ۲٦/۲٤ سانتی‌متر مشاهده شد که با میزان طول ساقه درتیمار شاهد سالم (۱۸/۸۳ سانتی‌متر) اختلاف معنی‌دار داشتند. حضور آنتاگونیست‌ها تأثیر معنی‌داری در افزایش طول ریشه نداشت؛ با این حال تمام آنتاگونیست‌ها باعث افزایش حجم ریشه شدند. بیشترین حجم ریشه در تیمار B2 و *T. harzianum* Tr3 مشاهده شد. افزایش حجم در تیمار B1 با شاهد سالم اختلاف معنی‌دار نداشت. نکته قابل توجه اینکه در تیمار *Bacillus subtilis* طول ریشه نسبت به شاهد سالم کاهش معنی‌دار داشت ولی حجم ریشه در این تیمار نسبت به شاهد سالم افزایش داشت. بیشترین وزن تر اندام هوایی در تیمار *T. longibrachiatum* مشاهده شد که نسبت به شاهد سالم افزایش معنی‌دار داشت. وزن تر اندام هوایی در تیمارهای *T. longibrachiatum*، B2 و *T. harzianum* Tr3 اختلاف معنی‌دار نداشت. بیشترین وزن خشک اندام هوایی، مربوط به تیمار B2 بود

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-16]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.11.5]

که به‌طور معنی‌دار بیشتر از شاهد سالم بود. تیمار B2 تنها تیماری بود که توانست وزن تر و خشک ریشه را نسبت به شاهد سالم به‌طور معنی‌دار افزایش دهد.

در تیمارهای آلوده به بیمارگر، بوته‌های گلدان شاهد فاقد انتاگونیست طی یک هفته تا ده روز خشک شدند. در تیمارهای آلودهٔ دارای آنتاگونیست، فقط طول ساقه در تیمارهای *T. harzianum* Tr3 و B2 به ترتیب با اندازه‌های ۱۳/۸۷ و ۱۲/۱۸ سانتی‌متر نسبت به شاهد آلوده (٤/٣٤ سانتی‌متر) افزایش معنی‌دار داشت. وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه با شاهد آلوده اختلاف معنی‌دار نداشت. این موضوع می‌تواند به این دلیل باشد که زمان ارزیابی در پایان آزمایش و بعد از مرگ گیاه بود. به احتمال زیاد اگر ارزیابی زودتر انجام می‌شد، تیمارهای آلوده‌ی دارای آنتاگونیست نسبت به شاهد آلوده در شاخص‌های رشدی افزایش نشان می‌دادند.

جدول ٤- مقایسه میانگین صفات رشدی گیاه طالبی در تیمارهای حاوی آنتاگونیست‌های مختلف و قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (FOM) در مقایسه با گروههای شاهد در شرایط گلخانه

Table 4. Mean Comparison of the growth traits of cantaloupe in treatments containing different antagonists and *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* (FOM) in greenhouse conditions.

Treatment	stem length (cm)	root length (cm)	shoot wet weight (gr)	root wet weight (gr)	Shoot dry weight (gr)	root dry weight (gr)	root volume (ml)
control	18.83 de	25.25 abc	5.19 bc	1.83 bc	0.55 bc	0.15 bc	0.27 e
T. harzianum Tr3	30.30 a	24.42 bc	6.39 ab	2.01b	0.58 bc	0.17 bc	2.58 ab
T. longibrachiatum	28.18 ab	30.63 a	8.06 a	1.74 bc	0.84 ab	0.16 bc	1.7 bcd
T. asperellum Tr14	20.72 cd	28.75 ab	5.87 bc	1.2 cd	0.58 bc	0.088 cd	1.5 cd
B1	22.94 bcd	19.81 cd	4.44 c	0.91 ed	0.40 bc	0.09 cd	0.87 de
B2	26.24 abc	23.75 bc	6.88 ab	3.08 a	1.46 a	0.26 a	3.33 a
Bacillus subtilis MCC0067	20.10 cde	12.97 efg	5.39 bc	1.98 bc	0.48 bc	0.18 ab	2.19 bc
FOM	4.34 g	12.13 efgh	0.04 d	0.02f	0.00 c	0.00 e	0.00 e
FOM+*T. harzianum* Tr3	13.88 ef	16.67 de	0.61 d	0.26 ef	0.1 c	0.04 ed	0.14 e
FOM+*T. longibrachiatum*	5.39 g	8.92 fgh	0.05 d	0.00f	0.05 c	0.02 ed	0.00e
FOM+*T. asperellum* Tr14	3.71 g	7.13 gh	0.01 d	0.00f	0.05 c	0.00 e	0.00e
FOM+B1	5.71 g	6.38 h	0.06 d	0.00f	0.04 c	0.00 e	0.00e
FOM+B2	12.18 f	13.38 ef	0.14 d	0.00f	0.09c	0.02 ed	0.00e
FOM+*Bacillus subtilis* MCC0067	5.5g	9.81 fgh	0.12 d	0.00f	0.05 c	0.00 e	0.00e
LSD	5.757	5.990	1.866	0.81	0.662	0.081	0.912

در هر ستون تیمارهای دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح پنج درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند. اعداد جدول میانگین چهار تکرار هستند.

In each colum, means with the same letter are not significantly different from each other according to LSD test (p=0.05). Each number is the mean of four replicates.

استفاده مداوم از سموم شیمیایی باعث ایجاد فشار بالای انتخاب بر روی عوامل بیماری‌زا می‌شود که به جهش درون بیمارگرها و ایجاد نژادهای مقاوم به سموم منتهی می‌شود. امروزه با آگاهی از خطرات زیست‌محیطی آفت‌کشهای شیمیایی، مهار زیستی آفات و بیمارگرها بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. پژوهش حاضر به منظور یافتن آنتاگونیست‌هایی با خاصیت بازدارندگی روی عامل پژمردگی فوزاریومی طالبی (FOM) *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* اجرا شد؛ بنابراین اثر بازدارندگی چند جدایه تریکودرما و ریزوباکتر در آزمایشگاه و گلخانه بررسی شد.

در کشت متقابل، هر چهار جدایه تریکودرما با استقرار روی محیط کشت مانع پیشروی قارچ بیمارگر شدند. این امر ممکن است به برتری رقابتی جدایه‌های تریکودرما در کسب فضا و غذا نسبت به قارچ FOM مربوط باشد. درصد بازدارندگی جدایه‌های تریکودرما به‌طور تقریبی از ٦٢ تا ٧٥ متغیر بود. نکته مورد توجه این بود که با گذشت زمان، ریسه‌های هر چهار جدایه تریکودرما

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.11.5]

از روی ریسه‌های قارچ بیمارگر عبور کرده و به انتهای تشتک پتری رسیدند، به‌طوری‌که از *Fusarium* تنها بلوک انتقال داده شده برای کشت قابل مشاهده بود. در بررسی انجام شده توسط نوروزی و همکاران (Norouzi *et al.*, 2013) برخلاف تحقیق حاضر، جدایه‌های *T. harzianum* قادر به پیشروی روی پرگنه قارچ بیمارگر FOM جدا شده از خربزه نبودند، درحالی‌که سویه‌های *T. viridae* روی پرگنه بیمارگر پیشروی نمودند. در آزمایش انجام شده توسط اشرفی‌زاده و همکاران (Ashrafizadeh *et al.*, 2002) جدایه‌های مختلف تریکودرما (*T. virens*، *T. harzianum*، *T. viride*) در کشت متقابل با قارچ بیمارگر FOM مانع از رشد عامل بیماری‌زا شده ولی بر روی پرگنه آن پیشروی نکردند، فقط در محل برخورد با عامل بیماری‌زا باعث کاهش و کم‌تراکم‌تر شدن ریسه‌های عامل بیماری‌زا شدند. با این حال در گزارش آل‌آقایی و همکاران (Aleaghaee *et al.*, 2019) سویه‌های *T. atroviridae* و *T. harzianum*، قدرت پوشاندن قارچ بیمارگر *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* را داشتند. در تحقیق حاضر، در کشت متقابل *T. asperellum* Tr14 با FOM، درصد بازدارندگی بیش از ٦٠ درصد بود درحالی‌که نوروزی و همکاران (Norouzi *et al.*, 2013) درصد بازدارندگی جدایه‌ی *T. asperellum* را حدود ١٠ درصد گزارش نمودند. گزارش‌های متفاوت در زمینه‌ی توانایی گونه‌ها و سویه‌های مختلف تریکودرما در استقرار روی بیمارگرها یا بازدارندگی از رشد آنها، بیانگر تنوع در مکانیسم عمل آن‌ها بوده که حتی در سویه‌های مختلف یک گونه می‌تواند متفاوت باشد. بنابراین برای معرفی یک سویه به عنوان عامل مهار زیستی، انجام آزمایش‌های اولیه ضروری است.

متابولیت‌های فرّار حاصل از جدایه‌های تریکودرما در بازدارندگی از رشد پرگنه‌ی عامل بیماری‌زا مؤثر بودند و با گذشت زمان درصد بازدارندگی افزایش یافت. روند افزایشی درصد بازدارندگی مواد فرّار را می توان به تجمع مواد فرّار و افزایش غلظت آنها در محیط نسبت داد. در تحقیق اشرفی‌زاده و همکاران (Ashrafizadeh *et al.*, 2002) نیز تأثیر متابولیت‌های فرّار تریکودرما در جلوگیری از رشد میسلیوم قارچ FOM مثبت و با روند افزایشی گزارش شد. در بررسی انجام شده توسط نوروزی و همکاران (Norouzi *et al.*, 2013)، درصد بازدارندگی ترکیبات فرّار ضدقارچی گونه *T. harzianum*، ٣١/٥ درصد گزارش شد. در تحقیق حاضر نیز میزان بازدارندگی متابولیت‌های فرّار دو جدایه‌ی *T. harzianum* ٣٤/٥ و ٣٩/٥ درصد تعیین شد.

با توجه به تأثیر بازدارندگی متابولیت‌های فرّار سویه‌های تریکودرما و نیز اثر بازدارندگی آنها در کشت متقابل با FOM، به نظر می‌رسد این جدایه‌ها عواملی با تأثیرهای چند جانبه هستند و بنابراین گزینه‌های مناسبی جهت بررسی کارایی در مهار زیستی بیماری پژمردگی آوندی فوزاریومی هستند.

در کشت متقابل جدایه‌های باکتری با FOM، رشد قارچ بیمارگر نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار داشت. درصد بازدارندگی از ٤٦ تا ٦٠ درصد متغیر بود. درصد بازدارندگی جدایه‌های باکتری کمتر از جدایه‌های تریکودرما بود. در گزارش نوروزی (Norouzi *et al.*, 2013) و آل‌آقایی (Aleaghaee *et al.*, 2019) نیز درصد بازدارندگی سویه‌های باسیلوس نسبت به سویه‌های تریکودرما کمتر بود. این نتیجه چندان دور از انتظار نیست؛ زیرا سویه‌های تریکودرما توان پیشروی در محیط را دارند و نسبت به باکتری قدرت رقابت بیشتری برای اشغال فضا و کسب مواد غذایی دارند؛ از طرفی سویه‌های تریکودرما معمولا دارای متابولیت‌های فرّار ضدمیکروبی هستند. نتایج تحقیق حاضر، بیانگر این است که اثر بازدارندگی جدایه‌های باکتری مورد بررسی، بیشتر به ترشح ترکیبات ضدمیکروبی قابل نشت مربوط است؛ زیرا در بررسی تولید ترکیبات ضدمیکروبی قابل نشت در آگار، درصد بازدارندگی جدایه‌ی B1، B2 و *B. subtilis* MCC0067 به ترتیب ١٠٠، ٩١/٦ و ٦٥/٨ درصد تعیین شد، در حالی‌که در آزمون تولید ترکیبات فرّار اثر بازدارندگی نداشتند.

در شرایط گلخانه آنتاگونیست‌ها قادر به ممانعت کامل از وقوع بیماری پژمردگی فوزاریومی روی طالبی نبودند ولی شروع بیماری و بروز علائم به تأخیر افتاد. علائم بیماری با گذشت زمان به درجه پنج بیماری‌زایی رسید. قابل ذکر است که در این تیمارها تکرار مصرف آنتاگونیست در طول دوره رشد انجام نشد؛ تکرار در اضافه نمودن سوسپانسیون آنتاگونیست‌ها در فواصل زمانی معین به خاک، به دلیل افزایش جمعیت آنتاگونیست در ریزوسفر سبب افزایش القای رشد و مهار بهتر بیماری می‌شود (Dilantha

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-16]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.11.5]

Fernando *et al.*, 2005). بنابراین پیشنهاد می‌شود در آزمایش‌های بررسی تأثیر آنتاگونیست‌ها برای مهار بیمارگر، مصرف دوره‌ای آنتاگونیست نیز به عنوان یک تیمار بررسی و ارزیابی شود.

در تیمار شاهد آلوده، رشد قارچ بیمارگر FOM در محیط خاک مورد آزمایش، بسیار سریع صورت گرفت. کلونیزه شدن سریع قارچ بیمارگر در این خاک به دلیل سترون بودن خاک و رشد قارچ در خاک عاری از هر نوع آنتاگونیست می‌باشد. در این تیمار بوته‌ها ظرف ده روز دچار مرگ شدند. اسپور قارچ بیمارگر جوانه می‌زند و از طریق انتهای ریشه و یا زخمهای موجود در محل انشعاب ریشه‌های فرعی وارد ریشه‌ها و سپس آوندها شده و در آنجا به حرکت و تکثیر خود ادامه داده و موجب بروز علائم پژمردگی در گیاه می‌شود (Agrios, 2005). در گلدان‌های حامل آنتاگونیست و قارچ بیمارگر، ممکن است آنتاگونیست‌ها با استقرار روی سطح ریشه با بیمارگر به رقابت پرداخته و باعث ممانعت از استقرار قارچ بیمارگر و در نتیجه تأخیر در ورود قارچ به گیاه و بروز علائم شده باشند. همچنین این احتمال وجود دارد که آنتاگونیست‌ها با آزاد کردن ترکیبات مختلف، باعث القای مقاومت در گیاه و کاهش روند پیشروی بیماری در گیاه شده باشند. دلیل احتمالی دیگر این است که آنتاگونیست‌ها با افزایش تارهای کشنده و حجم ریشه منجر به افزایش سطح ریشه و جذب بهتر آب و مواد غذایی و تاخیر در بروز پژمردگی شده باشند. با این حال از آنجا که در این آزمایش تکرار مصرف آنتاگونیست انجام نشد، در فاصله زمانی رویش و رشد بذر و رسیدن ریشه به خاک حاوی فوزاریوم، جمعیت قارچ بیمارگر در محیط عاری از میکروب به میزان زیاد افزایش یافته و بر جمعیت آنتاگونیست غالب شده و ریشه‌های جدید را کلونیزه و منجر به بیمار شدن گیاه شد. شاید با تکرار مصرف آنتاگونیست به دفعات در طی رشد گیاه مهار بیماری بهتر صورت می‌گرفت.

در بین آنتاگونیست‌های مختلف، روند پیشرفت بیماری در تیمارهای آلوده‌ی حامل تریکودرما نسبت به باکتری‌ها کندتر بود. چهل روز بعد از کشت، شدت بیماری در تیمارهای حامل *T. harzianum* Tr3 و *T. longibrachiatum* به طور معنی‌داری کمتر از سایر آنتاگونیست‌ها بود. در این زمان، بیشترین شدت بیماری در تیمارهای حامل باکتری‌های B1 و *B. subtilis* MCC0067 مشاهده شد. در بررسی انجام شده توسط آل‌آقایی و همکاران (Aleaghaee *et al.*, 2019) نیز سویه‌های تریکودرما نسبت به باکتری‌ها تأثیر بهتری در کاهش شدت بیماری داشتند. باکتری B2 نسبت به *B. subtilis* MCC0067 و باکتری B1 در مهار بیماری در گلخانه موفق‌تر بود در حالی‌که در شرایط آزمایشگاه، اثر بازدارندگی باکتری B1 و B2 اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. این موضوع می‌تواند به توانایی بهتر باکتری B2 برای بقا و استقرار روی گیاه یا در خاک، توانایی القای مقاومت در گیاه توسط این باکتری یا توانایی بیشتر آن در افزایش حجم ریشه مربوط باشد.

مقایسه‌ی نتایج پژوهش‌های آزمایشگاهی و گلخانه‌ای نشانگر عملکرد متفاوت میکروارگانیسم‌ها در این دو بخش است. در محیط آزمایشگاهی میکروب‌ها اثر بازدارندگی قابل توجهی نشان دادند ولی در محیط گلخانه کارایی میکروارگانیسم‌ها کاهش یافت. تغییر در میزان استقرار و متابولیتهای مؤثر در مهار زیستی، فعالیت و پایداری محدود باکتری پس از رهاسازی در خاک و عدم پایداری ژنتیکی باکتری در طول مدت نگهداری در آزمایشگاه، منجر به از دست رفتن برخی خصوصیات مهم باکتریها می‌شود (Keel and Defago, 1997). از ویژگی‌های مهم باکتری‌های تقویت‌کننده رشد برای موفقیت در مهار زیستی بیمارگرها، قدرت بقا و کلونیزه نمودن ریشه است (El-saadony *et al.*, 2022). در پژوهش حاضر، کاهش کارایی جدایه‌ها در گلخانه ممکن است به علت عدم توانایی آنها در رقابت با میکروب‌های فراریشه و کلونیزه نمودن ریشه یا ناپایداری آن‌ها در محیط خاک باشد. به طور کلی برهمکنش‌های پیچیده بین بیمارگر، آنتاگونیست، میزبان و محیط روی کارایی آنتاگونیست‌ها در مزرعه تاثیر دارند و ممکن است آنتاگونیستی که بیمارگر را در شرایط آزمایشگاه به خوبی مهار می‌کند در شرایط مزرعه موفق عمل نکند (Lahlali *et al.*, 2022).

در تیمارهای فاقد بیمارگر، آنتاگونیست‌های مورد استفاده تأثیر معنی‌داری در افزایش طول ریشه نداشتند با این حال به جز باکتری B1، سایر آنتاگونیست‌ها باعث افزایش معنی‌دار حجم

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.11.5]

ریشه شدند. بیشترین حجم ریشه در تیمار B2 و *T. harzianum* Tr3 مشاهده شد. یکی از سازوکارهای تقویت رشد گیاه توسط آنتاگونیست‌ها تولید هورمون‌هایی مانند اکسین است (de Andrade *et al.*, 2023; Yao *et al.*, 2023). اکسین سبب تقویت ریشه‌زایی در گیاه می‌شود (Taiz and Zeigar, 2010) و بنابراین علت احتمالی افزایش حجم ریشه توسط آنتاگونیست‌ها می‌تواند تولید اکسین باشد. باکتری *B. subtilis* MCC0067 باعث کاهش معنی‌دار طول ریشه شد. این نتیجه ممکن است به این علت باشد که افزایش غلظت اکسین به بالاتر از میزان بهینه، سبب توقف رشد طولی ریشه می‌شود (Taiz and Zeigar, 2010). در پژوهش انجام شده توسط معرف‌زاده و همکاران (Moarrefzadeh *et al.*, 2023) نیز تیمار با بعضی از آنتاگونیست‌ها از جمله *B. subtilis* منجر به کاهش معنی‌دار طول ریشه نخود شد.

باکتری B1 در افزایش هیچ کدام از صفات رشدی بررسی شده به جز وزن تر ریشه تأثیر معنی‌دار نداشت ولی باکتری B2 بجز طول ریشه و وزن تر اندام هوایی سایر صفات رشدی را بطور معنی‌دار افزایش داده و یکی از بهترین جدایه‌ها در افزایش شاخص‌های رشدی بود. بر اساس گزارش جمالی و همکاران (Jamali *et al.*, 2005) جدایه‌های باکتریائی در خاک آلوده به قارچ موجب افزایش رشد بوته‌های نخود شدند. این باکتری‌ها به‌خصوص جدایه‌های باسیلوس بر ارتفاع بوته، طول ریشه و وزن خشک بخش‌های هوایی و ریشه اثر مثبتی داشتند. در بررسی انجام شده توسط آل‌آقایی و همکاران (Aleaghaee *et al.*, 2019) نیز در تیمار باکتری باسیلوس، شاخص‌های رشدی افزایش یافت. باکتریهای آنتاگونیست با تولید سیدروفورها و جذب آهن به رشد گیاه کمک می‌کنند. بر اساس گزارش افتخاری‌زاده و یوسفی کوپائی (Eftekharizadeh and Yousefi kopaei, 2019)، باکتری B2 قادر به تولید میزان زیادی اکسین (۳۲/۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر) است ولی میزان تولید اکسین توسط باکتری B1 کم (۲/۱٤ میکروگرم بر میلی‌لیتر) است. همچنین باکتری B2 قادر به تولید HCN، پروتئاز و لیپاز است و خاصیت بازدارندگی آن از رشد FOM ممکن است به این ویژگی‌ها مربوط باشد. باکتری B1 قادر به تولید HCN نیست ولی در تولید پروتئاز و لیپید قوی‌تر از B2 است. باکتری B2 بر مبنای ترادف ژن 16s rRNA و بعضی خصوصیات فنوتیپی مانند گرم مثبت، کاتالاز مثبت، هوازی اجباری و شکل میله‌ای به عنوان *Arthrobacter* معرفی شده است (Eftekharizadeh and Yousefi kopaei, 2019). چندین گزارش، باکتری *Arthrobacter* را به عنوان باکتری محرک رشد گیاه معرفی نموده‌اند (Banerjee *et al.*, 2010; Chakraborty *et al.*, 2014). همچنین گزارشهایی مبنی بر اثر آنتاگونیستی این جنس روی بیمارگرهای باکتریایی و قارچی وجود دارد (Chhetri *et al.*, 2022; Ramlawi *et al.*, 2021; Velázquez-Becerra *et al.*, 2013). تحقیق حاضر نیز توان تحریک رشد گیاه و ویژگی ضدقارچی این جنس را تایید نمود. باکتری B1 گرم مثبت، بی‌هوازی اختیاری، اکسیداز منفی، کاتالاز مثبت و میله‌ای شکل است و ممکن است به جنس *Bacillus* تعلق داشته باشد (Eftekharizadeh and Yousefi kopaei, 2019). جهت شناسایی دقیق آن لازم است آزمون‌های بیشتری انجام شود.

آنتاگونیست‌های قارچی مورد استفاده در تحقیق حاضر، تاثیر معنی‌داری در افزایش طول ریشه، وزن تر و خشک ریشه و وزن خشک اندام هوایی نداشتند ولی هر سه جدایه باعث افزایش معنی‌دار حجم ریشه شدند. تیمارهای *T. harzianum* Tr3 و *T. longibrachiatum* منجر به افزایش معنی‌دار طول ساقه شدند. وزن تر ساقه نیز در تیمار *T. longibrachiatum* افزایش معنی‌دار داشت. از سال‌ها قبل توانایی قارچ تریکودرما در افزایش میزان رشد و نمو گیاهان، به ویژه توانایی آنها برای تولید ریشه‌های قوی‌تر، شناخته شده است. بسیاری از سازوکارهای دخیل در این توانایی شناسایی شده‌اند. گونه‌های *Trichoderma* با آزاد کردن ترکیبات مختلف باعث بوجود آمدن مقاومت سیستمیک در گیاه و افزایش رشد و باعث ایجاد مقاومت در برابر عوامل زنده و غیرزنده همچنین افزایش بهره‌وری، بهبود فتوسنتز و استفاده از نیتروژن در گیاه می‌شوند. ترشح اسیدهای آلی همچون گلوکورونیک، سیتریک و فوماریک توسط گونه‌های *Trichoderma* باعث کاهش اسیدیته (pH) خاک و در نهایت افزایش حلالیت و جذب ریزمغذی‌های مهم مورد نیاز برای رشد گیاه همچون آهن، منگنز، منیزیم، کاتیون‌های معدنی و فسفات می‌شود (Benitez *et al.*, 2004). ارزیابی کارایی سه گونه‌ی *Trichoderma* و دو استرین *Bacillus* در مهار

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.11.5]

زیستی *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* روی خربزه نشان داد که کاربرد آنتاگونیست‌های قارچی و باکتریایی با تولید متابولیت‌های خارج سلولی باعث افزایش رشد گیاهان می‌شود (Norouzi *et al*., 2013).

به‌طور کلی در تحقیق حاضر باکتری B2 در افزایش شاخص‌های رشدی و قارچ‌های Tr3 *T. harzianum* و *T. longibrachiatum* در مهار بیماری پژمردگی فوزاریومی طالبی در گلخانه نسبت به سایر آنتاگونیست‌های مورد بررسی کارایی بالاتری داشتند.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد جهت تامین هزینه‌ی این پژوهش کمال تشکر را دارند.

منابع

Abeysinghe, S. (2007). Biological control of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* the causal agent of root rot of bean using *Bacillus subtilis* CA32 and *Trichoderma harzianum* RU01. Ruhuna Journal of Science, 2, 82-88.

Agrios, G. N. (2005). Plant Pathology, 5th ed. Elsevier Academic Press, New York, 635p.

Aleaghaee, S., Rezaee, S., Ebadi, M., & Zamanizadeh, H. (2019). Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici and induction of defensive enzyme of phenylalanine ammonialyse in tomato by Trichoderma and Bacillus antagonist isolates. Journal of Microbial World, 12(2), 125-138. (In Farsi with English abstract). **dor: 20.1001.1.20083068.1398.12.39.3.2**

Asad, S. A. (2022). Mechanisms of action and biocontrol potential of *Trichoderma* against fungal plant diseases - A review. Ecological Complexity, 49, 100978. **https://doi.org/10.1016/j.ecocom.2021.100978.**

Antoun, H., & Kloepper, J. (2001). Plant growth promoting rhizobacteria. In: Brenner S, Miller JH (eds). Encyclopedia of genetics. Academic Press, New York, 1477–1480.

Ashrafizadeh, A., Etebarian, H., & Zamanizadeh, F. (2002). Evaluation of *Trichoderma* isolates for biocontrol of Fusarium wilt of melon. Iranian Journal of Plant Pathology, 41, 39-57. (In Farsi with English abstract).

Banerjee, S., Palit, R., Sengupta, C., & Standing, D. (2010). Stress induced phosphate solubilization by *Arthrobacter* sp. and *Bacillus* sp. isolated from tomato rhizosphere. Australian Journal of Crop Science, 4, 378- 383.

Benitez, T., Rincon, A. M., Limon, M. C., & Codon, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International Microbiology, 7(4), 249-260.

Burger, Y., Katzir, N., Tzuri, G., Portnoy, V., Saar, U., Shriber, S., Perl-Treves, R., & Cohen, R. (2003). Variation in the response of melon genotypes to *Fusarium oxysporum* f.sp. *melonis* race 1 determined by inoculation tests and molecular markers. Plant Pathology, 52, 204-211. **https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2003.00806.x**

Chakraborty, A., Mala, R. H., Rajgopal, R., Jain, M., Yadav, R., Siddalingeshwara, K. G., & Pramod, T. (2014). Isolation and characterization of potential plant growth promoting rhizobacteria from non-rhizospheric soil. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 3, 432-438.

Chhetri, G., Kim, I., Kang, M., So, Y., Kim, J., & Seo, T. (2022). An isolated *Arthrobacter* sp. enhances rice (*Oryza sativa* L.) plant growth. Microorganisms, 10, 1187. **doi: 10.3390/microorganisms10061187.**

de Andrade, L. A., Santos, C. H. B., Frezarin, E. T., Sales, L. R., & Rigobelo, E. C. (2023). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria for Sustainable Agricultural Production. Microorganisms, 11(4), 1088. **doi: 10.3390/microorganisms11041088.**

Dennis, C., & Webster, J. (1971). Antagonistic properties of species-groups of Trichoderma. Transactions of the British Mycological Society, 57, 363-369**. https://doi.org/10.1016/s0007-1536(71)80050-5**.

Dilantha Fernando, W. G., Ramarathnam, R., Krishnamoorthy, A.S., & Savchuk, S. C. (2005). Identification and use of potential bacterial organic antifungal volatiles in biocontrol. Soil Biology and Biochemistry, 37, 955-964. **https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.10.021.**

Eftekharizadeh, P., & Yousefi Kopaei, F. (2019). Isolation and characterization of plant growth promoting bacteria from rhizosphere of *Sophora alopecuroides*. Journal of Soil Biology, 7, 181-194. (In Farsi with English abstract).

Elad, Y., Chet, & Katan, J. (1980). *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizocionia solani*. Phytopathology, 70, 119-121. **doi: 10.1094/Phyto-70-119.**

Fiddaman, P. J., & Rossall, S. (1993). The production of antifungal volatiles by *Bacillus subtilis*. Journal of Applied Bacteriology, 74, 119-126**. doi: 10.1111/j.1365-2672.1993.tb03004.x**.

Frommel, M. I., Pazos, G. S., & Nowak, J. (1991). Plant-growth stimulation and biocontrol of Fusarium wilt (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*) by co-inoculation of tomato seeds with *Serratia plymuthica* and *Pseudomonas* sp. Fitopatologia, 26, 66-73.

Hagedorn, C., Gould, W. D., & Bardinelli, T. R. (1989). Rhizobacteria of cotton and their repression of seedling disease pathogens. Applied and Environmental Microbiology, 55, 2793-2797. **doi: 10.1128/aem.55.11.2793-2797.1989.**

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.11.5]

Jamali, F., Sharifi-Tehrani, A., Okhovvat, M., & Zakeri, Z. (2005). Investigating the effect of several antagonistic bacteria on *Fusarium oxysporum*, the cause of Fusarium wilt of Iranian chickpeas in greenhouse conditions. Scientific Journal of Agriculture, 36(3), 711-717. (In Farsi with English abstract).

Keel, C., & Défago, G. (1997). Interactions between beneficial soil bacteria and root pathogens: mechanisms and ecological impact. In: Gange, A. C. & Brown, V. K. (Eds.). Multitrophic Interactions in Terrestrial Systems: 36th Symposium of the British Ecological Society. Cambridge University Press, 27-47.

Kraus, J., & Loper, J. E. (1992). Lack of evidence for a role of antifungal metabolite production by *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 in biological control of pythium damping-off of cucumber. Phytopathology, 82, 264-271. **doi: 10.1094/Phyto-82-264.**

Moarrefzadeh, N., & Khateri, H. (2023). Biological control of Ascochyta blight and improvement of chickpea growth parameters by the application of arbuscular mycorrhiza and plant growth promoting rhizobacteria. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 11 (2), 141-157. (In Farsi with English abstract). **dor:20.1001.1.25885073.1401.11.2.8.7.**

El-Saadony, M. T., Saad, A. M., Soliman, S. M., Salem, H. M., Ahmed, A. I., Mahmood, M., El-Tahan, A. M., Ebrahim, A. A. M., Abd El-Mageed, T. A., Negm, S. H., Selim, S., Babalghith, A. O., Elrys, A. S., El-Tarabily, K. A., & AbuQamar, S. F. (2022). Plant growth promoting microorganisms as biocontrol agents of plant diseases: Mechanisms, challenges and future perspectives. Frontiers in Plant Science, 13, 923880. **doi: 10.3389/fpls.2022.923880.**

Lahlali, R, Ezrari, S., Radouane, N., Kenfaoui, J., Esmaeel, Q., El Hamss, H., Belabess, Z., & Barka, E. A. (2022). Biological control of plant pathogens: a global perspective. Microorganisms, 10, 596. **doi: 10.3390/microorganisms10030596.**

Norouzi, Z., Rahnama, K., Rabbani Nasab, H., & Taghi Nasab, M. (2013). Evaluating the effectiveness of *Bacillus* and *Trichoderma* isolates in controlling Fusarium wilt of melon. Biocontrol in Phytomedicine, 2(1), 43-55. (In Farsi with English abstract). **doi: 10.22092/BCPP.2014.100335.**

Perchepied, L., & Pitrat, M. (2004). Polygenic inheritance of partial resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* race1, 2 in melon. Phytopathology, 94, 1331-1336. **https://doi.org/10.1094/phyto.2004.94.12.1331.**

Ramlawi, S., Abusharkh, S., Carroll, A., McMullin, & D. R., & Avis, T. J. (2021). Biological and chemical characterization of antimicrobial activity in *Arthrobacter* spp. isolated from disease-suppressive compost. Journal of Basic Microbiology, 61(8),745-756. **https://doi.org/10.1002/jobm.202100213.**

Ritschel, P.S., Lins, T. Cd. L., Tristan, R. L., Buso, G. S. C., Buso, J. A., & Ferreira, M. E. (2004). Development of microsatellite markers from an enriched genomic library for genetic analysis of melon (*Cucumis melo* L.). BMC Plant Biology, 4, 9. **doi: 10.1186/1471-2229-4-9.**

Taiz, L., & Zeigar, E. (2010). Plant Physiology. 5th ed. Sinauer Associates. Sunderland, 782p.

Velázquez-Becerra, C., Macías-Rodríguez, L. I., López-Bucio, J., Flores-Cortez, I., Santoyo, G., Hernández-Soberano, C., & Valencia-Cantero, E. (2013). The rhizobacterium *Arthrobacter agilis* produces dimethylhexadecylamine, a compound that inhibits growth of phytopathogenic fungi in vitro. Protoplasma, 250, 1251-1262. **doi: 10.1007/s00709-013-0506-y.**

Wang, H., Liu, R., You, M. P., Barbetti, M. J., & Chen, Y. (2021). Pathogen biocontrol using plant growth-promoting bacteria (pgpr): role of bacterial diversity. Microorganisms, 9, 1988. **doi: 10.3390/microorganisms9091988.**

Weller, D. M., & Cook, R. J. (1983). Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads. Phytopathology, 73, 463-469. **doi: 10.1094/Phyto-73-463.**

Yao, X., Guo, H., Zhang, K., Zhao, M., Ruan, J., Chen, J. (2023). *Trichoderma* and its role in biological control of plant fungal and nematode disease. Frontiers in Microbiology, 14, 1160551. **doi: 10.3389/fmicb.2023.1160551.**

Zuniga, T. L., Zitter, T. A., Gordon, T. R., Schroeder, D. T., & Okamoto, D. (1997). Characterization of pathogenic races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* causing Fusarium wilt of melon in New York. Plant Disease 81:592-596. **doi: 10.1094/PDIS.1997.81.6.592.**

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-08-16]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1402.12.1.11.5]