



تأثیر قارچ *Trichoderma harzianum* و محصول تجاری بایوگارد در کنترل پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه لوبیای چیتی

The effect of *Trichoderma harzianum* and Bioguard as a commercial biological product against Rhizoctonia root rot of Chitti bean

اکبر شیرزاد^{۱*}، رقیه حبیبی^۱، وحید فلاح زاده^۱، وحید سرابی^۲

Akbar Shirzad^{1*}, Rogaie Habibi¹, Vahid Fallahzadeh¹, Vahid Sarabi²

۱- به ترتیب دانشیار، فارغ التحصیل دوره کارشناسی ارشد و دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی،

دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز- ایران

۲- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز- ایران

1- Associate professor, Graduated MSc. student, and Associate professor from Department of Plant Protection,

2- Associate professor from Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz-Iran

*Corresponding Author, Email: ashirzad98@yahoo.com

ashirzad98@yahoo.com

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۵/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۸/۲۳ - تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۹/۲۸)

Received: 2024/08/19 | Accepted: 2024/11/13 | Published: 2024/12/18

Abstract

Root rot and seedling blights of beans caused by *Rhizoctonia solani* is one of the most important fungal diseases in beans. In this study, the inhibitory effect of *Trichoderma harzianum* biocontrol isolate and Bioguard biological product was investigated *in vitro* and greenhouse conditions on the pathogenic fungus *R. solani* in 2020. The effect of treatments on disease inhibition, plant growth indices, chlorophylls and carotenoids content and peroxidase, phenylalanine-ammonialyase enzymes were studied. The results of *in vitro* assay showed that although Bioguard significantly prevented the growth of pathogenic mycelium in the culture medium, however, the treatment of *Trichoderma harzianum* showed more efficient with 51% inhibition rate. In greenhouse studies, both *T. harzianum* and Bioguard treatments had a significant effect on disease control. In terms of the effect on plant growth indicators, Bioguard had the highest stem and root fresh weight as well as stem and root length. In terms of chlorophyll content of bean leaves and carotenoids content, both Bioguard and *Trichoderma* treatment with pathogenic fungus *R. solani* showed a significant difference with the diseased control plant. Bioguard and *Trichoderma* antagonist fungus treatments together with pathogenic fungus led to the highest activity of phenylalanine ammonialyase and peroxidase enzymes and had statistically significant differences with Bioguard and *T. harzianum* alone treatments. Therefore, it is recommended to use both *Trichoderma harzianum* fungus and Bioguard as a commercial product in the occurrence of bean rhizoctonia root rot disease.

Key words: Antagonist, Biocontrol, Induced Resistance, Legumes, Physiological traits.

چکیده

رفرائس دهی این مقاله Citation

Shirzad A, Habibi R, Fallahzadeh V, Sarabi V. (2025). The effect of *Trichoderma harzianum* and Bioguard as a commercial biological product against Rhizoctonia root rot of Chitti bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Genetic Engineering and Biosafety Journal, 13 (2): 164-179. Doi: [10.61882/gebsj.13.2.1](https://doi.org/10.61882/gebsj.13.2.1)

URL: <http://gebsj.ir/article-1-501-fa.html>

شیرزاد ا، حبیبی ر، فلاح زاده و، سرابی و. (۱۴۰۳). تأثیر قارچ *Trichoderma harzianum* و محصول تجاری بایوگارد در کنترل پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه لوبیای چیتی. مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی. ۱۴۰۳؛ ۱۳ (۲): ۱۶۴-۱۷۹

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 13, Number 2, 2025

خلاصه

پوسیدگی ریشه و بوته‌میری لوبیا ناشی از قارچ *Rhizoctonia solani* یکی از مهم‌ترین بیماری‌های قارچی در لوبیا می‌باشد. در این مطالعه، قدرت بازدارندگی جدایه بیوکنترلی *Trichoderma harzianum* Tr6 و محصول بیولوژیک بایوگارد در شرایط آزمایشگاه و گلخانه بر روی قارچ بیمارگر *Rhizoctonia solani* AG4 مورد بررسی قرار گرفت. تأثیر تیمارها بر بازدارندگی بیماری، شاخص‌های رشدی گیاه، محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها و آنزیمهای پراکسیداز، فنیل آلانین آمونیلایز در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج بررسی‌های آزمایشگاهی نشان داد که هرچند محصول تجاری بایوگارد بطور قابل توجهی از رشد میسلیمی بیمارگر در محیط کشت جلوگیری نمود، با این حال تیمار قارچ تریکودرما با ۵۱ درصد میزان بازدارندگی، ممانعت‌کنندگی بیشتری نشان داد. در بررسی‌های گلخانه‌ای، هر دو تیمار *T. harzianum* و بایوگارد تأثیر معنی‌داری در کنترل بیماری داشتند. از لحاظ تأثیر بر شاخص‌های رشدی گیاه، بایوگارد بیشترین وزن تر ساقه و ریشه و نیز طول ساقه و طول ریشه را داشت. از لحاظ محتوای کلروفیل برگ لوبیا و نیز محتوای کاروتنوئیدها، هر دو تیمار بایوگارد و تریکودرما همراه با قارچ بیمارگر ریزوکتونیا اختلاف معنی‌داری با گیاه بیمار نشان دادند. تیمارهای بایوگارد و قارچ آنتاگونیست تریکودرما همراه با قارچ بیمارگر منجر به بیشترین فعالیت آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیلایز و پراکسیداز شدند و اختلاف آماری معنی‌داری با تیمارهای بایوگارد و تریکودرما تنها داشتند. از اینرو، استفاده از هر دو تیمار قارچ تریکودرما و محصول تجاری بایوگارد در شرایط وقوع بیماری پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه لوبیا چیتی توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: آنتاگونیست، بیوکنترل، حبوبات، مقاومت القائی، ویژگی‌های فیزیولوژیکی.

مقدمه

Introduction

بیوکنترل از اهمیت بالایی برخوردار است. امروزه کنترل زیستی با استفاده از میکروارگانیسم‌های آنتاگونیست روشی امیدبخش برای مدیریت بیمارگرهای گیاهی است و توجه بسیاری از محققین را به خود جلب نموده است. از جمله عوامل بیوکنترل برای مدیریت بیماری پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه لوبیا، گونه‌های تریکودرما می‌باشند که می‌توانند به‌عنوان یک نمونه عالی از یک قارچ مدل برای افزایش بهره‌وری محصولات در کشاورزی پایدار محسوب شوند. بررسیها نشان داده که برخی از گونه‌های قارچ *Trichoderma* می‌توانند با افزایش تحمل گیاه به تنشهای محیطی مانند شوری باعث بهبود رشد گیاهان زراعی و افزایش عملکرد محصول شوند. لذا این قارچ می‌تواند در تولید کودهای زیستی برای تولید لوبیا چیتی در شرایط شور و غیرشور مطرح باشد (Rezaloo et al. 2024). قارچ‌های *Trichoderma* spp. به عنوان عوامل بیوکنترلی تاریخچه طولانی دارند. گزارش‌های اولیه در مورد قارچ

حبوبات پس از غلات مهمترین منبع غذایی بشر بوده و در این بین، لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) ازجمله مهمترین عضو آن در جهان محسوب می‌شود. پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه ناشی از قارچ *Rhizoctonia solani* kühn از مهمترین بیماری‌های ریشه و هیپوکوتیل لوبیا است (Abawi and Pastor-Corrales 1990). باتوجه به دامنه میزبانی وسیع عامل بیماری پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه، تناوب زراعی از کارآیی مطلوبی جهت کنترل این بیماری برخوردار نبوده است. تاکنون رقم مقاومی علیه این بیماری در ایران گزارش نشده است (Naseri, 2008) و برای کنترل این بیماری غالباً از روش شیمیائی استفاده می‌شود. از این‌رو، با توجه به آثار سوء زیست محیطی کاربرد سموم شیمیایی در خاک، از قبیل اثر منفی روی میکروارگانیسم‌های مفید و آنتاگونیست‌های خاکزاد، ایجاد مقاومت در بیمارگرها، باقی‌ماندن سموم در محصولات مورد استفاده انسان، آلودگی منابع آب زیرزمینی و غیره، استفاده از عوامل

آزمایشگاه و گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مایکوپارازیتسم، مکانیسم اصلی جدایه های تریکودرما در فعالیت آنتاگونیستی روی *R. solani* است. متابولیت های فرار جدایه های تریکودرما نیز اثر بازدارندگی قابل توجهی بر رشد میسلومی بیمارگر داشتند (Khodae and Hemmati, 2016).

افزودن قارچ تریکودرما به مخلوط بدون خاک آلوده به بیمارگر *R. solani* منجر به کنترل میرایی در فلفل و خیار شد (Lewis and Lumsden, 2001). گسترش بیماری ناشی از *R. solani* زمانی که بوته های خیار با *Trichoderma atroviride* TRS25 پیش تیمار شدند، محدود شد. محافظت از خیار با افزایش فعالیت آنزیم های دفاعی گیاه مرتبط بود (Nawrocka et al. 2018). جدایه های تریکودرما در شرایط آزمایشگاهی توانستند بین ۸۶ تا ۵۸ درصد رشد *R. solani* را مهار کنند. در شرایط *in vivo* بوته های لوبیا آلوده به *R. solani* تیمار شده با *Trichoderma harzianum* T019 نسبت به شاهد افزایش رشد داشتند. این جدایه تأثیر مثبتی بر سطح مقاومت بوته های لوبیا به *R. solani* داشته و بیان ژن های مربوط به دفاع گیاه را القا نمود (Mayo et al. 2015). در حال حاضر، فرمولاسیون تعدادی از گونه های تریکودرما و دیگر عوامل بیوکنترلی به عنوان کودهای بیولوژیکی و تقویت کننده ی رشد محصولات کشاورزی در بسیاری از کشورها در دسترس کشاورزان است که این امر باعث کاهش میزان استفاده از سموم شیمیایی شده است. گونه تریکودرما با استقرار و هاگزایی فراوان در محیط خاک و به ویژه اطراف ریشه اغلب گیاهان زراعی، سبزی، صیفی و زیتی نه تنها باعث کاهش عوامل بیماریزا در خاک می شود، بلکه با مکانیسم های بیوشیمیایی موجب تحریک به رشد اندام های زیرزمینی یا هوایی گیاهان می شود (Alizadeh and Salari, 2016). در تحقیق حاضر، تأثیر قارچ آنتاگونیست *T. harzianum* و محصول تجاری بایوگارد بر کاهش شدت بیماری پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه لوبیا و افزایش فاکتورهای رویشی در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفت.

تریکودرما توسط ویندلینگ (Weindling, 1941) ارائه گردیده است و از دهه ۱۹۸۰ میلادی مورد توجه بیشتری قرار گرفتند (Papavizas, 1985). این قارچ ها قادر به کنترل تعداد زیادی از بیمارگرهای گیاهی بوده و چندین محصول تجاری از آنها در بازار در دسترس است (Harman, 2000). برای کنترل بیماری های گیاهی در موارد متعددی از قارچ های آنتاگونیست بیمارگرهای گیاهی استفاده می شود که حدود ۹۰ درصد این موارد استرین های مختلف قارچ تریکودرما بوده اند (Benitez et al. 2004). استرین های تریکودرما عوامل بیوکنترل موفق بوده و این موفقیت ناشی از عوامل متعددی از قبیل ظرفیت بالای تکثیر، قدرت بقاء تحت شرایط نامساعد، توانایی در تغییر ریزوسفر، توانایی برای مقابله با قارچ های بیمارگر گیاهی و توانایی تحریک سیستم دفاعی و رشد گیاه می باشند. این خصوصیات، قارچ های تریکودرما را قادر می سازد تا بتوانند به عنوان یک جنس همه جازی در هر جایی با تراکم بالا حضور داشته باشند (Benitez et al. 2004). در بین مکانیسم های کنترل زیستی، مایکوپارازیتسم، رقابت و آنتی بیوز مکانیسم های اصلی هستند که گونه های قارچ تریکودرما علیه پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه بکار می برند و در نتیجه از تکثیر آن جلوگیری نموده یا مانع از رشد آن می شوند. علاوه بر این، گونه های قارچ تریکودرما موجب القای مقاومت سیستمیک ISR یا SAR در گیاهان در مقابل پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه می شوند (Abbas et al. 2022). گزارش های متعددی از کنترل قارچ بیمارگر *R. solani* توسط گونه های تریکودرما در لوبیا و دیگر گیاهان زراعی وجود دارد. جدایه ای از قارچ *T. harzianum* در شرایط آزمایشگاه موجب لیز شدن میسلوم دو عامل بیماریزای لوبیا (*R. solani*, *Sclerotium rolfsii*) گردید و در شرایط گلخانه هم موجب کاهش چشمگیر شدت بیماری شد (Elad et al. 1980). دو جدایه *T. harzianum* و *T. viride* در مقایسه با دیگر جدایه های مورد آزمایش، بیشترین درصد بازدارندگی از رشد میسلومی *R. solani* را داشتند (Sallam Nashwa et al. 2008). در بررسی ارزیابی کارایی جدایه های تریکودرما برای کنترل زیستی بیماری پوسیدگی ریزوکتونیایی ریشه لوبیا، توانایی آنتاگونیستی ۱۱ جدایه تریکودرما بر روی قارچ *R. solani* جدا شده از ریزوسفر ریشه لوبیا در شرایط

مواد و روش‌ها

Materials and Methods

بررسی اثر ترشحات مایع خارج سلولی (Culture filtrate)

تریکودرما در جلوگیری از رشد میسلیومی *R. solani*

برای تهیه ترشحات مایع خارج سلولی (ترشحات غیرفرار تریکودرما)، جدایه قارچ در محیط کشت Czapek-Dox کشت داده شد. پس از ۸ روز روی شیکر با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه، محتویات ارلن با استفاده از دستگاه پمپ خلاء و صافی میکروبیولوژیک با قطر روزنه ۰/۲۲ میکرومتر عصاره‌گیری گردید. از این عصاره تریکودرما نسبت‌های ۱۵، ۲۵ و ۵۰ درصدی در محیط کشت PDA تهیه شد. در تیمار شاهد، از محیط کشت مایع بدون قارچ استفاده گردید. پس از انعقاد محیط کشت، در وسط هر پتری یک دیسک هشت میلیمتری از *R. solani* کشت گردید و نمونه‌ها در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار در سه تکرار انجام گرفت و درصد بازدارندگی *R. solani* با استفاده از معادله (۱) محاسبه شد.

اثبات بیماری‌زایی قارچ *R. solani* روی لوبیا چیتی

تهیه مایه تلقیح *R. solani* و اثبات بیماری‌زایی بیمارگر روی لوبیا چیتی (*Phaseolus vulgaris* L.) طبق روش اولادزاد و همکاران انجام شد (Oladzad et al. 2019). علایم و شدت بیماری‌زایی حدود سه هفته بعد از کشت مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی اثر قارچ تریکودرما بر بیماری پوسیدگی رایزوکتونایی لوبیا در شرایط گلخانه‌ای

مایه تلقیح قارچ *Trichoderma harzianum* روی بذر گندم تهیه و زادمایه حاصل برای مطالعات گلخانه‌ای مورد استفاده قرار گرفت (Duffy et al. 1997). بذور لوبیا رقم چیتی (دریافتی از موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال) بعد از ضدعفونی سطحی در گلدان‌های حاوی خاک سترون و پرلیت استریل به نسبت ۴:۱ آلوده به اینوکولوم *R. solani* و *T. harzianum* (به نسبت مساوی ۱درصد، W/W) کشت شدند. در تیمار مربوط به محصول بیولوژیکی بایوگارد، بذور لوبیا به میزان یک‌ونیم درصد آغشته و کشت شدند. گلدان‌ها به گلخانه (با دمای ۲۵ درجه سلسیوس،

به منظور ارزیابی اثرات محصول تجاری بایوگارد و قارچ تریکودرما بر کاهش اثرات قارچ بیمارگر رایزوکتونیا عامل بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا چیتی، پژوهشی در آزمایشگاه بیماری‌شناسی و گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهیدمدنی آذربایجان انجام شد. قارچ بیمارگر *R. solani* و آنتاگونیست *T. harzianum* از کلکسیون آزمایشگاه بیماری‌شناسی گیاهی دانشگاه شهیدمدنی آذربایجان و محصول بیولوژیکی بایوگارد از شرکت فن آوری زیستی طبیعت گرا تهیه شدند.

بررسی قدرت بازدارندگی از رشد بیمارگر توسط قارچ

تریکودرما در شرایط آزمایشگاهی

بازدارندگی از رشد بیمارگر به روش کشت متقابل درون پتری حاوی محیط کشت PDA صورت گرفت (Dennis and Webster 1971). بعد از چند روز و طی مشاهدات مستمر میانگین قطر پرگنه اندازه‌گیری و طبق رابطه زیر، درصد بازدارندگی محاسبه گردید:

معادله (۱)

$$I = \frac{C_2 - C_1}{C_2} \times 100$$

I = درصد بازدارندگی، C_2 = قطر پرگنه در شاهد، C_1 = قطر پرگنه در تیمار

بررسی قدرت بازدارندگی از رشد بیمارگر *R. solani* توسط

محصول بیولوژیکی بایوگارد در شرایط آزمایشگاه

آزمایش با استفاده از روش کشت متقابل در محیط کشت PDA انجام گرفت؛ به این ترتیب که یک دیسک از قارچ *R. solani* به قطر ۷ میلی‌متر در یک طرف تشتک پتری با فاصله یک سانتی‌متر از دیواره پتری قرار داده شد و در طرف مقابل پتری ۲۰ میکرولیتر از محصول بیولوژیکی بایوگارد به نسبت یک و ۱/۵ گرم در هزار میلی‌لیتر و یک دیسک از محصول بیولوژیکی بایوگارد خالص، هر کدام در سه تکرار قرار داده شد. در تشتک پتری شاهد به جای محصول بیولوژیکی از آب مقطر استفاده شد. درصد بازدارندگی طبق رابطه ذکر شده بالا محاسبه شد.

اندازه‌گیری محتوای آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز

بدین منظور، ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره استخراج شده، ۱۸۰۰ میکرولیتر ۵۰۰ میلی مولار تریس-HCL (pH=8.8) و ۹۰۰ میکرولیتر ال-فنیل آلانین یک میلی مولار مخلوط شدند و به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شدند. سپس، واکنش با افزودن اسید کلریدریک ۲ نرمال متوقف گردید و غلظت ترنس سینامیک اسید بر اساس منحنی استاندارد این ماده در بافر تریس محاسبه گردید. میزان فعالیت آنزیمی بر اساس نانومول‌های تولید شده ترنس سینامیک اسید بر دقیقه بر وزن تر برگ محاسبه گردید. مقدار سینامیک اسید تولید شده بر اساس منحنی استاندارد بدست آمده از غلظت‌های ۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸، و ۱ میکروگرم بر میلی لیتر بافر تریس ۵۰۰ میلی مول و با pH=8.8 محاسبه گردید (Wang et al. 2006).

اندازه‌گیری محتوای آنزیم پراکسیداز

برای سنجش میزان فعالیت این آنزیم، از روش تغییر یافته‌ی اوربانک و همکاران (Urbanek et al. 1991) استفاده گردید. محلول واکنش شامل ۵۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی، ۳۵۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار، ۳۵۰ میکرولیتر پیروگالول ۱۰ میلی‌مولار و یک میلی‌لیتر H_2O_2 ۷۰ میلی‌مولار بود. این محلول پس از اختلاط کامل در کووت‌های دو میلی‌لیتری، بلافاصله به مدت سه دقیقه در دستگاه اسپکتروفتومتر ($T80^+$ ساخت چین) قرار گرفت و میزان جذب آن در طول موج ۴۷۰ نانومتر ثبت شد. در نهایت، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به صورت میکرومول H_2O_2 تجزیه شده در میلی گرم پروتئین در دقیقه محاسبه گردید.

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل‌های a، b، کل و کاروتنوئیدها

بدین منظور، برگ‌های کامل و توسعه یافته از بخش فوقانی بوته‌ها انتخاب و دیسک‌های برگ‌های آن تهیه شد. ۰/۵ گرم از نمونه‌های برگ‌های در هاون چینی با نیتروژن مایع آسیاب شد. سپس، به نمونه‌ها ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد اضافه شده و در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند. میزان جذب محلول روی نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر قرائت

تناوب نوری ۱۶ ساعتی) منتقل شدند. این آزمایش با شش تیمار (شامل تریکودرما، بایوگارد هرکدام به تنهایی و در ترکیب با بیمارگر، بیمارگر و کنترل) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با پنج تکرار انجام گرفت. بعد از گذشت ۴ هفته از رشد، بوته‌ها از داخل گلدان‌ها خارج و پس از شستشوی خاک ریشه‌ها، شدت بیماری بر اساس مقیاس پنج شماره‌ای ارزیابی گردید (Bayram et al. 2022). مقیاس بکار برده شده برای ارزیابی درجه و شدت بیماری از صفر (بدون علائم) تا ۴ (خسارت شدید، مرگ کامل) متغیر بود. درجه‌بندی ۱ برای کمی تغییر رنگ یا رشد ریشه‌ها به اندازه کمتر از ۳ سانتیمتر، درجه‌بندی ۲ برای یک یا چندین زخم به اندازه کمتر از ۰/۵ سانتیمتر یا رشد ریشه‌ها به اندازه کمتر از ۲ سانتیمتر و درجه‌بندی ۳ برای یک یا چندین زخم به اندازه بیشتر از ۰/۵ سانتیمتر یا رشد ریشه‌ها به اندازه کمتر از ۱ سانتیمتر اختصاص یافت. همچنین، شاخص‌های رشدی شامل طول ساقه و ریشه، وزن تر ریشه و وزن تر اندام هوایی در بوته‌های لوبیا چیتی اندازه‌گیری شدند.

بررسی تأثیر عامل بیوکنترلی *Trichoderma harzianum* و بایوگارد در القای مقاومت سیستمیکی گیاه

بدین منظور، بعضی آنزیم‌ها و ترکیبات مهم تولید شده در مسیرهای دفاعی گیاه نظیر پراکسیداز، فنیل آلانین آمونیلایز و نیز کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئیدها اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها، عصاره‌ی آنزیمی از گیاهان تیمار شده با استفاده از روش تغییر یافته ابو-الیوسر و همکاران (Abo-Elyousr et al. 2009) استخراج گردید. برای تهیه‌ی بافر استخراج، ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم با pH=7، با NaCl یک مولار، EDTA یک میلی‌مولار، β -mercaptoethanol ده میلی‌مولار و polyvinylpyrrolidone یک درصد مخلوط شدند. سپس، به ازای یک گرم نمونه گیاهی، یک میلی‌لیتر از بافر استخراج اضافه شده و پس از استخراج عصاره در دستگاه سانتریفیوژ (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) با سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. در نهایت، فاز بالایی محلول در ویال‌های ۲ میلی‌لیتری جمع‌آوری شد و جهت نگهداری به دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد انتقال یافت.

شد. در نهایت، با استفاده از فرمول‌های زیر محتوای کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر نمونه بدست آمد (Arnon, 1967):

$$\text{Chl. a} = (19.3 * A_{663} - 0.86 * A_{645})V/100W$$

$$\text{Chl. b} = (19.3 * A_{645} - 3.6 * A_{663})V/100W$$

$$\text{Carotenoids} = 100(A_{470}) - 3.27(\text{mg Chl. a}) - 104(\text{mg Chl. b})/227$$

=V حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)

A= جذب نور در طول موج های ۶۶۳، ۶۴۵، و ۴۷۰ نانومتر

W= وزن تر نمونه بر حسب گرم

تجزیه و تحلیل داده‌ها و روش‌های آماری

تجزیه داده‌های آزمایش در محیط نرم‌افزار Minitab نسخه ۱۷ انجام شد و مقایسه میانگین بین تیمارها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌داری (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. تست نرمالیت به روش آندرسون-دارلینگ انجام شد و داده‌هایی که نرمال نبودند، تبدیل داده بر روی آنها انجام گرفت.

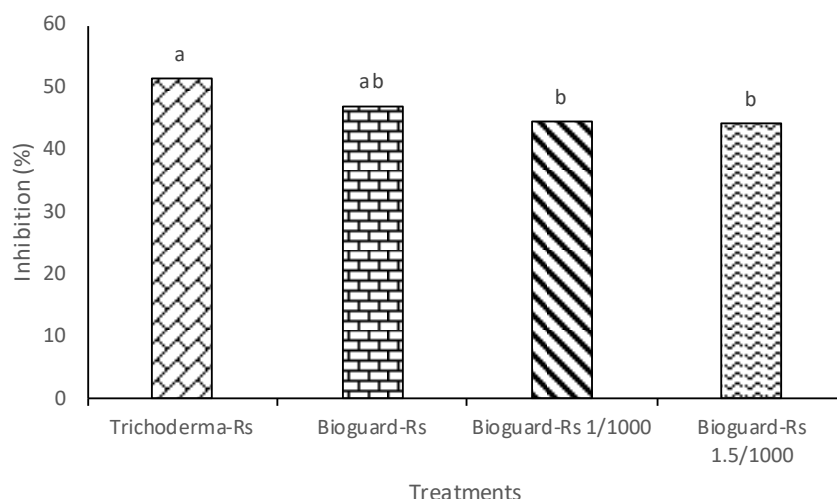
Results and Discussion

پیشروی، کلونیزاسیون و اسپورزایی جدایه‌های قارچ تریکودرما می‌تواند متفاوت باشد. جدایه‌های رایزوکتونیای نیز برای مقابله با حمله تریکودرما بلافاصله بعد از برخورد با هیف آنتاگونیست دیواره ضخیمی از اسکروت ایجاد کردند تا از پیشروی میسلیم‌های تریکودرما جلوگیری کنند (Khodae and Hemmati, 2016). مکانیسم‌های آنتاگونیستی قارچ *T. harzianum* شامل فرایندهای پیچیده‌ای نظیر شیمی‌گرایی، اتصال ریشه‌ای و ایجاد ساختارهایی نظیر پیچش و نفوذ ریشه‌ای می‌باشد. این مراحل با ترشح آنزیم‌های خارج سلولی نظیر کیتیناز، بتاگلوکاناز و پروتئاز به عنوان متابولیت‌های ثانویه همراه است. موفقیت این گونه بیشتر به واسطه خاصیت هم‌افزایی فعالیت آنتی‌بیوزی و آنزیم‌های هیدرولیزکننده می‌باشد (Burmeister, 2008). با توجه به فرمولاسیون محصول بایوگارد که ظاهراً دارای قارچ *Trichoderma harzianum* و باکتری *Bacillus velezensis* می‌باشد، لذا انتظار می‌رود که این عوامل با مکانیسم‌های بیوکنترلی خود بتوانند از رشد دیگر میکروارگانیسم‌ها از جمله *R. solani* جلوگیری کنند. باکتری *B. velezensis* انواع متابولیت‌های ثانویه مختلف از قبیل fengycin, bacillomycin D, surfactin, mycosubtilin, bacillibactin, macrolactin, paenibactin, rhizocticin A و غیره تولید می‌کند که علیه بسیاری از بیمارگرهای گیاهی عمل می‌کنند (Rabbee et al. 2023).

نتایج و بحث

بررسی قدرت بازدارندگی از رشد بیمارگر توسط قارچ تریکودرما و بایوگارد در شرایط آزمایشگاهی

نتایج نشان داد که تیمارهای آزمایش بطور معنی‌داری از رشد قارچ *R. solani* در سطح احتمال یک درصد ممانعت می‌کنند. تیمار قارچ آنتاگونیست تریکودرما با ۵۱٪ بیشترین میزان بازدارندگی، بایوگارد خالص با ۴۷٪ و دو غلظت یک‌ونیم و یک در هزار بایوگارد به ترتیب به میزان ۴۴ و ۴۰ درصد بازدارندگی نشان دادند (شکل ۱). بازدارندگی *R. solani* توسط جدایه‌های مختلف *T. harzianum* توسط محققین مختلف گزارش شده است (Yao et al. 2023). در آزمایشی، میزان بازدارندگی *R. solani* توسط جدایه‌های مختلف قارچ *Trichoderma spp.* در شرایط *in vitro* بین ۵۸ تا ۸۶ درصد گزارش شده است (Mayo et al. 2015). در آزمایشی دیگر، قارچ‌های *T. harzianum* و *T. hamatum* در کشت متقابل توانستند از رشد میسلیمی *R. solani* به ترتیب ۴۲ و ۷۸ درصد ممانعت نمایند (Barakat et al. 2007). در بررسی ارزیابی کارایی جدایه‌های قارچ تریکودرما برای کنترل بیماری رایزوکتونیایی ریشه لوبیا نشان داده شد که جدایه‌های قارچ *T. harzianum* پس از برخورد با میسلیم‌های *R. solani* مانع از رشد و توسعه آنها شدند. البته توانایی آنتاگونیستی جدایه‌های مختلف *T. harzianum* علیه *R. solani* بسته به سرعت



شکل ۱- درصد بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر *R. solani* تحت تأثیر تیمارهای *T. harzianum* و محصول تجاری بایوگارد.

Fig 1. Inhibition percentage of the growth of *Rhizoctonia solani* influenced by *Trichoderma harzianum* and Bioguard as a commercial product.

مایع خارج سلولی جدایه‌های قارچ تریکودرما از طریق تأثیر بر خاصیت تراوایی دیواره سلولی *R. solani* سبب خروج محتویات سلولی از قبیل قندها، پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه از سلولهای هیف می‌شود (Harman, 2000; Lumsden et al. 1992). گونه *T. harzianum* دامنه وسیعی از آنتی بیوتیک‌ها و آنزیمها را علیه قارچ‌های مختلف تولید می‌کند. این گونه در برابر *R. solani* بتاگلوکاناز و کیتیناز تولید می‌کند که سبب لیز شدن هیف میزبان می‌شود (Lorito et al. 1996).

در بررسی ترشحات مایع خارج سلولی، تمام غلظت‌های مورد آزمایش بطور معنی‌داری سبب کاهش رشد میسلیمومی *R. solani* شدند (جدول ۱). البته، بین تیمارها نیز تفاوت معنی‌داری وجود داشت و بیشترین میزان کاهش رشد با ۶۰/۸۲ درصد بازدارندگی مربوط به تیمار غلظت ۵۰ درصد و کمترین میزان مربوط به تیمار غلظت ۱۵ درصد بود (جدول ۱). نتایج این آزمایش نشان داد که ترکیبات مایع خارج سلولی *T. harzianum* می‌تواند یک مکانیسم آنتاگونیستی مهم این گونه علیه بیمارگر *R. solani* باشد. ترشحات

جدول ۱- اثر ترشحات مایع خارج سلولی قارچ تریکودرما در جلوگیری از رشد میسلیموم *R. solani*

Table 1. Effect of extracellular fluid secretions of *Trichoderma* fungus in preventing *R. solani* mycelium growth.

Treatment (Percent of extract)	Mean of inhibition percentage
50	60.82 a
25	25.12 b
15	20.56 c
Check	0.00 c

میانگین‌های با حروف مشابه اختلاف معنی‌داری با یکدیگر بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P \leq 0.05$) ندارند.

Columns with at least one common letter are not significant at 0.05 probability levels by Duncans' test.

بررسی اثر قارچ تریکودرما بر بیماری پوسیدگی رایزوکتونایی لوبیا در شرایط گلخانه‌ای

پوسیدگی رایزوکتونایی لوبیا را کنترل نموده و وزن ریشه و ساقه بوته‌های لوبیا در مقایسه با شاهد آلوده افزایش نشان دادند (جدول ۲)، بطوری‌که *T. harzianum* و محصول تجاری بایوگارد شدت بیماری را از ۴ به ترتیب به ۱/۶۰ و ۱/۴۰ کاهش داده و از اینرو وزن ریشه و ساقه افزایش یافت. در تیمار شاهد آلوده تقریباً تمام بوته‌ها مرگ گیاهیچه را نشان دادند.

توانایی قارچ آنتاگونیست *T. harzianum* در کنترل پوسیدگی رایزوکتونایی لوبیا و تأثیر احتمالی آن بر شاخص‌های رشدی گیاه و القای مقاومت سیستمیک در شرایط گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج بررسی‌های گلخانه‌ای نشان داد که هر دو تیمار، اعم از کاربرد *T. harzianum* یا بایوگارد بطور معنی‌داری بیماری

جدول ۲- تأثیر تیمارهای بازدارندگی کننده از رشد قارچ *Rhizoctonia solani* بر کنترل بیماری و برخی صفات رشدی لوبیا چیتی در شرایط گلخانه‌ای.

Table 2. The effect of treatments inhibiting the growth of *Rhizoctonia solani* on disease control and some growth traits of Chitti bean under greenhouse conditions.

Treatments	Root rating	necrosis	Root weight (g)	Shoot weight (g)	Root length (cm)	Stem length (cm)
Check	0.00 c		2.90 bc	5.30 c	10.50 c	94.00 b
Bioguard	0.00 c		6.53 a	9.60 a	21.17 a	117.70 a
Trichoderma	0.00 c		5.83 a	7.83 b	15.5 b	50.20 c
Bioguard + Rhizoctonia	1.40 b		3.20 b	3.90 d	16 b	37.70 d
Trichoderma + Rhizoctonia	1.60 b		1.67 c	2.23 e	8.83 d	35.80 d
Rhizoctonia	4.00 a		0.0 d	0.0 f	0.00 e	0.00 e

میانگین‌های با حروف مشابه اختلاف معنی‌داری با یکدیگر بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P \leq 0.05$) ندارند.

Columns with at least one common letter are not significant at 0.05 probability levels by Duncan's test.

چندین مکانیسم بیوکنترلی مختلف به‌طور همزمان در کنترل بیماری‌های خاکزاد است. لذا، بوجود آمدن گونه‌های مقاوم بیمارگر در برابر آن به احتمال زیاد غیرممکن است و این مزیت همراه با امکان تلفیق‌پذیری و سازگاری با قارچکشی‌های معمول، اهمیت استفاده از این عامل در برنامه مدیریت تلفیقی را بالا می‌برد (Mosavi Mirak et al. 2019). همانطور که در جدول ۲ ملاحظه می‌شود، علاوه بر کنترل معنی‌دار بیماری توسط قارچ تریکودرما و بایوگارد، شاخص‌های رشدی گیاه نیز در مقایسه با شاهد آلوده و حتی شاهد سالم، عملکرد بهتری داشته است. البته، تیمارهای مربوط به بایوگارد هم از لحاظ کنترل بیماری و هم از لحاظ شاخص‌های رشدی بهتر از تیمار تریکودرما بودند. این موضوع احتمالاً ناشی از ترکیبات موجود در فرمولاسیون این محصول است که ظاهراً متشکل از قارچ *T. harzianum* و باکتری *B. velezensis*، اسید هیومیک و عصاره جلبک دریایی با منشأ *Sargassum*، *Laminaria* و *Ascophyllum nodosum* است. در

در بررسی بیوکنترلی بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا ناشی از *R. solani*، نتایج نشان دادند که کاربرد قارچ *T. harzianum* بطور معنی‌داری بیماری را کنترل و باعث افزایش وزن، طول ریشه و ساقه لوبیا شد (Abd-El-Khair et al. 2010; Matloob and Juber, 2013; Mayo et al. 2015). گونه‌های قارچ تریکودرما از مکانیسم‌های مختلفی برای مقابله با بیمارگرهای گیاهی نظیر کاهش مقاومت و واکنش‌های دفاعی گیاه، مقابله مستقیم از طریق مایکوپارازیتسم، آنتی بیوز، رقابت و تحریک رشد گیاه استفاده می‌کنند (Papavizas, 1985). کاربرد جدایه‌هایی از قارچ تریکودرما در خیار و کاهو نیز موجب کاهش بیماری مرگ گیاهیچه و پوسیدگی رایزوکتونایی ریشه گردید (Smolińska et al. 2007). یکی از مکانیسم‌های کنترلی آنتاگونیست تریکودرما عمدتاً مایکوپارازیتسم به حالت پیچش پیرامون هیف‌های بیمارگر و تداخل هیف‌ها در همدیگر می‌باشد. البته، مزیت استفاده از قارچ تریکودرما به عنوان یک قارچکشی بیولوژیک، فعال نمودن

در مقایسه با تیمار شاهد افزایش دهند (Hosseinzeynali et al. 2020). در بررسی اثر تیمار با تریکودرما بر شاخص‌های رشدی گیاه لوبیا، ارتفاع گیاهچه‌های لوبیا در تیمار با قارچ تریکودرما افزایش تقریباً دو برابری را نشان دادند و وزن تر و خشک گیاهچه‌ها هم افزایش داشتند (Barakat et al. 2007). تریکودرما نه تنها می‌تواند از بیماری‌ها جلوگیری کند، بلکه باعث رشد گیاهان، بهبود کارایی استفاده از مواد غذایی، افزایش مقاومت گیاه و بهبود محیط زیست آلودگی‌های شیمیایی کشاورزی می‌شود. تریکودرما همچنین به عنوان یک عامل کنترل زیستی ایمن، کم هزینه، موثر و سازگار با محیط زیست برای گونه‌های مختلف زراعی عمل می‌کند

محتوای کلروفیل و کاروتنوئیدها

تأثیر تیمارهای آزمایشی روی محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در برگ‌های لوبیا چیتی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که تیمارهای بیوگارد و تریکودرما دارای بیشترین محتوای کلروفیل a بودند و با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌داری داشتند (جدول ۳). در بررسی جمعیت‌های مختلف برخی عوامل پروبیوتیک بر محتوای کلروفیل درختان پسته رقم سرخس مشخص شد که باکتری‌های آنتاگونیست سودوموناس، باسیلوس و سویه‌های مختلف این دو باکتری باعث افزایش معنی‌دار در محتوای کلروفیل‌های a و b و کل شدند و در بین جمعیت‌های مورد آزمایش، جمعیت 10^8 نسبت به جمعیت‌های 10^6 و 10^4 محتوای کلروفیل بیشتری را موجب می‌شوند (Hajabdollahi et al. 2020). باوجودیکه محتوای کلروفیل a در تیمارهای بیوگارد و تریکودرما به همراه قارچ بیمارگر رایزوکتونیا در مقایسه با شاهد سالم کاهش نشان داد، ولی اختلاف معنی‌داری با تیمار قارچ بیمارگر رایزوکتونیا داشتند که به طور کامل محتوای کلروفیل a را کاهش داد. بیشترین محتوای کلروفیل b نیز مربوط به کاربرد تنه‌ای محصول تجاری بیوگارد و قارچ تریکودرما بود که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد سالم نداشتند (جدول ۳). در گیاهان ریحان تلقیح شده با قارچ تریکودرما نسبت به گیاهان شاهد در محتوای کلروفیل‌های a، b و کلروفیل کل اختلاف معنی‌داری وجود داشت و گیاهان تلقیح شده با قارچ تریکودرما

سال‌های اخیر، *B. velezensis* به عنوان یک عامل بالقوه کنترل زیستی در بسیاری از کشورها محبوبیت یافته است. چندین محصول کنترل زیستی مبتنی بر *B. velezensis* بویژه در چین و اروپا تأیید تجاری دریافت کرده‌اند. گزارش‌هایی در مورد خصوصیات مفید و بیوکنترلی این باکتری در کشاورزی وجود دارد. همچنین، چندین گزارش در مورد اثرات مضر آن بر چندین محصول نیز مورد بحث قرار گرفته است. بنابراین، با توجه به بیماری‌زایی ذاتی این باکتری برای چندین محصول، هنگام استفاده از آن در یک تکنیک جدید کشت محصولات باید مراقب بود (Rabbee et al. 2023). گونه‌های قارچ تریکودرما برای چندین دهه جهت افزایش رشد گیاه، بیوماس اندام هوایی و ریشه، عملکرد محصول و کنترل بسیاری از بیمارگرهای گیاهی شناخته شده‌اند (Shoreh and Harman, 2008). با اضافه کردن قارچ تریکودرما به خاک گلدان افزایش معنی‌داری در رشد گیاه لوبیا در مقایسه با تیمار فاقد تریکودرما مشاهده شد (Elad et al. 1980). تحریک رشد و افزایش شاخص‌های رشدی گیاه لوبیا در تیمار با قارچ تریکودرما در مقایسه با شاهد آلوده به رایزوکتونیا مشاهده شده است (Khodae and Hemmati, 2016). افزایش شاخص‌های رشدی گیاه در اثر کاربرد قارچ تریکودرما توسط بسیاری از محققین دیگر نیز به اثبات رسیده است (Elad et al. 1980; Smolińska et al. 2007; Mayo et al. 2015; Rubio et al., 2017). در یک مطالعه ارزیابی اثر کاربرد قارچ تریکودرما در شرایط تنش خشکی بر خصوصیات بیوشیمیایی و رنگی‌های فتوسنتزی گیاه ریحان مشاهده شد که میزان وزن تر (۱۷/۶۹ درصد) و خشک ساقه (۱۷/۲۷ درصد)، کلروفیل a (۰/۶۶ درصد)، کلروفیل b (۰/۶۴ درصد)، کلروفیل کل (۰/۶۶ درصد) و محتوای نسبی آب برگ (۱/۳۷ درصد) در تیمار آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی همراه با کاربرد قارچ تریکودرما نسبت به شاهد افزایش یافت (Salahiostad et al. 2022). تأثیر کاربرد دو گونه قارچی *T. harzianum* و *T. viride* بطور جداگانه و تلفیق هر دو گونه بر تغذیه و رشد درختان پسته در شرایط باغی نشان داد که هر سه تیمار توانستند پارامترهای رویشی شامل طول شاخه (تا ۶۰ درصد)، تعداد جوانه رویشی (تا ۳۰ درصد)، سطح برگ (تا ۵۰ درصد) و شاخص کلروفیل را در درختان پسته به طور معنی‌داری

افزایش در کلروفیل را نشان دادند (Salahiostad et al. 2022). کاربرد محصول تجاری بایوگارد و قارچ تریکودرما به همراه عامل بیمارگر رازیوکتونیا منجر به کاهش محتوای کلروفیل b در برگ-های لوبیا چیتی شد. با این حال، محتوای کلروفیل b در این تیمارها اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد حاوی عامل بیمارگر رازیوکتونیا داشت (جدول ۳). با توجه به اینکه یکی از صدمات قارچ‌های بیماری‌زای خاکزاد آسیب به ارتباطات آوندی بین قسمت هوایی و زیرزمینی گیاه است، در نتیجه این صدمه میزان فتوسنتز گیاهان تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Bauriegel and Herppich 2014) که در بررسی‌های آزمایشی کلروفیل برگ می‌تواند به عنوان معیار مناسبی از آسیب آلودگی گیاهان باشد که نتایج این آزمایش به درستی این مورد را تأیید نمود. بیشترین محتوای کلروفیل کل نیز به تبع کلروفیل‌های a و b مربوط به کاربرد تنه‌ای محصول تجاری بایوگارد و قارچ تریکودرما بود که احتمال می‌رود این تیمارها با اثرگذاری روی رشد ریشه و جذب موثر آب و عناصر غذایی منجر به افزایش محتوای کلروفیل کل شدند (جدول ۳). از دلایل افزایش کلروفیل گیاهان می‌توان به جذب حداکثری عناصر غذایی توسط ریشه گیاهان مرتبط دانست که این عمل افزایش جذب در اثر ترشح مواد کلاته‌کننده یا کمپلکس‌کننده عناصر غذایی در ناحیه ریشه گیاهان می‌باشد. در تیمارهای آلوده به قارچ عامل بیمارگر، محصول تجاری بایوگارد و قارچ تریکودرما تا حدی توانستند اثرات قارچ عامل بیمارگر را بر محتوای کلروفیل کل کاهش دهند. با این حال، این تیمارها اختلاف معنی‌داری با تیمارهای کاربرد تنه‌ای بایوگارد و قارچ تریکودرما داشتند.

تأثیر تیمارهای آزمایشی روی محتوای کاروتنوئیدها در برگ‌های لوبیا چیتی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که تیمارهای بایوگارد و قارچ تریکودرما منجر به بیشترین محتوای کاروتنوئیدها (به ترتیب با ۰/۲۵ و ۰/۲۴ میلی گرم بر گرم وزن تر) در برگ‌های لوبیا چیتی می‌شوند که با تیمار شاهد سالم اختلاف معنی‌داری نداشتند. در تحقیقی با استفاده از پوشش‌دار نمودن بذور لوبیا با قارچ تریکودرما نسبت به گیاهان شاهد محتوای کاروتنوئیدها افزایش یافت (Rezaloo et al. 2019). کمترین محتوای کاروتنوئیدها نیز مربوط به تیمار شاهد حاوی

عامل بیمارگر رازیوکتونیا بود که منجر به نابودی کامل محتوای کاروتنوئیدها در برگ‌های لوبیا چیتی شد. باوجودیکه تیمارهای بایوگارد و قارچ تریکودرما به همراه عامل بیمارگر رازیوکتونیا تا حدودی از اثرات قارچ رازیوکتونیا بر کاروتنوئیدهای موجود در برگ‌های لوبیا چیتی کاستند، ولی این تیمارها اختلاف معنی‌داری با تیمارهای کاربرد تنه‌ای بایوگارد و قارچ تریکودرما داشتند. محصول تجاری بایوگارد در مقایسه با قارچ تریکودرما در کاهش اثرات قارچ عامل بیمارگر رازیوکتونیا نتایج بهتری را ارائه داد (جدول ۳).

تأثیر عامل بیوکترلی *Trichoderma harzianum* و محصول تجاری بایوگارد در القای مقاومت سیستمیکی گیاه

سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز

نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز تحت تأثیر تیمارهای بازدارندگی‌کننده رشد میسیلیوم قارچ *R. solani* قرار گرفته و افزایش یافت. بیشترین فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز در تیمارهای مربوط به محصول تجاری بایوگارد و قارچ آنتاگونیست تریکودرما همراه با قارچ بیمارگر رازیوکتونیا بود که با تیمار رازیوکتونیا به تنهایی اختلاف معنی‌داری نشان داد (شکل ۲). این نتایج با نتایج دیگر محققین مطابقت دارد. بیشترین القای سیستمیک آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز در سیستم دفاعی بوته‌های خیار در تیمار با استرین *T. harzianum* T1-3 مشاهده شد و مشخص شد که قارچ تریکودرما قادر به افزایش معنی‌دار این آنزیم بوده و در کنترل بیماری پوسیدگی ناشی از قارچ *F. solani* نقش موثری دارد (Asadi et al. 2016). فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز در بوته‌های گوجه فرنگی تیمار شده با باکتری *Pseudomonas fluorescens* در حضور قارچ عامل بیماری *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* نسبت به تیمار تنه‌ای قارچ عامل بیماری افزایش یافت (Tavakol Norabadi et al. 2014). تحقیقات نشان داده‌اند که بعضی از باکتری‌ها از جمله *Bacillus spp.* با تولید آنتی بیوتیک و افزایش سطح فعالیت آنزیم‌های دفاعی مثل پراکسیداز و فنیل آلانین آمونیالیز (PAL) در کنترل بیماری‌های خاکزاد می‌توانند مورد استفاده قرار گیرند (Jayaraj et al. 2004). با تحریک خیار مایه کوبی شده با نماد

تیمار شاهد مشاهده شد که با تیمارهای بایوگارد و تریکودرما به تنهایی تفاوت معنی‌داری داشت (شکل ۲). قارچ تریکودرما دارای سیگنال‌های شیمیایی است که می‌تواند بر روی روشن شدن بیان ژن‌های دفاعی تأثیر گذارد و با فعال نمودن آنها سیستم دفاعی گیاه را روشن سازد. یکی از این ژن‌ها که در گیاه تحت تأثیر سیگنال‌های شیمیایی قرار می‌گیرد، ژن NPR1 است. سیگنال‌های شیمیایی نظیر ترکیبات فنلی بر روی بیان این ژن تأثیر گذاشته و با روشن نمودن آن، مکانیسم‌های دفاعی گیاه را فعال می‌سازند (Gholamnezhad, 2019).

مولد گره ریشه توسط محرک‌های میکروبی و شیمیایی، میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالایز در روز پنجم به اوج خود رسیده و سپس کاهش یافت (Javanshir Javid et al. 2016). پس از مایه‌زنی با *F. graminearum* میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالایز در خوشه‌های گندم نسبت به تیمار شاهد در مرحله گلدی افزایش یافت (Khaledi et al. 2016). آنزیم فنیل آلانین آمونیالایز، آنزیمی کلیدی در مسیر فنیل پروپانویید در گیاهان است که نقش مهمی در بیوسنتز ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها و لیگنین دارد. از اینرو، تغییرات در فعالیت این آنزیم در حضور عوامل آنتاگونیست تقشی محوری را در سنتز ترکیبات فنلی در پاسخ به تنش‌های مختلف ایفا می‌کند. کمترین فعالیت این آنزیم نیز در

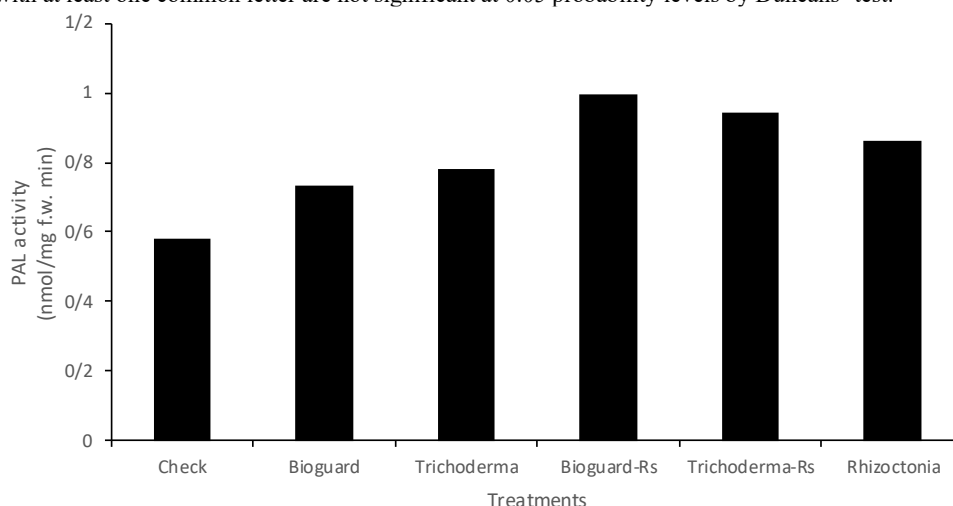
جدول ۳- تأثیر تیمارهای بازدارندگی کننده از رشد قارچ *Rhizoctonia solani* بر برخی صفات فیزیولوژیکی لوبیا چیتی در شرایط گلخانه‌ای.

Table 3. The effect of treatments inhibiting the growth of *R. solani* on some physiological traits of Chitti bean in greenhouse conditions.

Treatments	Chl. a content (mg/g f.w.)	Chl. b content (mg/g f.w.)	Total chl. content (mg/g f.w.)	Carotenoids content (mg/g f.w.)
Check	0.61 a	0.28 ab	0.89 a	0.22 ab
Bioguard	0.63 a	0.32 a	0.95 a	0.25 a
Trichoderma	0.62 a	0.31 a	0.93 a	0.24 ab
Bioguard + Rhizoctonia	0.48 b	0.25 bc	0.73 b	0.19 bc
Trichoderma + Rhizoctonia	0.44 b	0.21 c	0.63 b	0.14 c
Rhizoctonia	0.00 c	0.00 d	0.00 c	0.00 d

میانگین‌های با حروف مشابه اختلاف معنی‌داری با یکدیگر بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P \leq 0.05$) ندارند.

Columns with at least one common letter are not significant at 0.05 probability levels by Duncans' test.



شکل ۲- تأثیر تیمارهای بازدارندگی کننده از رشد قارچ *Rhizoctonia solani* بر میزان فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالایز در لوبیا چیتی.

Rs نشانه بیمارگر *R. solani* است.

Fig. 2. The effect of treatments inhibiting the growth of *R. solani* fungus on the activity of phenylalanine ammonialyase enzyme in Chitti bean.

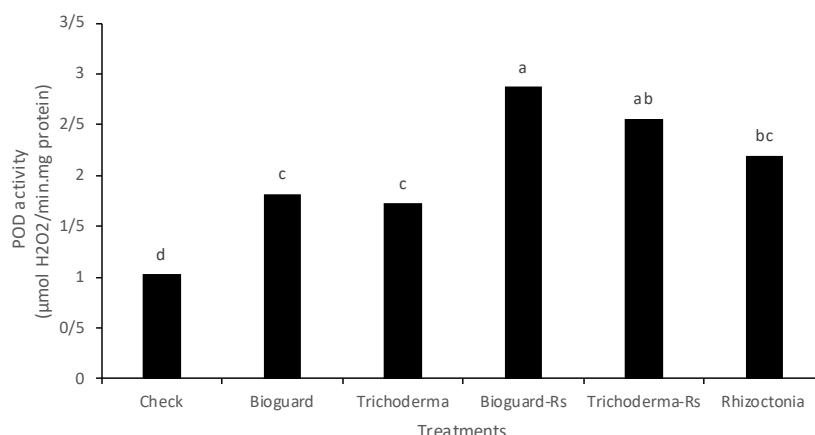
سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز

فعالیت آنزیم پروکسیداز تحت تأثیر تیمارهای بازدارندگی کننده رشد میسیلیوم قارچ *R. solani* در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (شکل ۳). تیمارهای بایوگارد و تریکودرما به همراه قارچ عامل بیمارگر رازیوکتونیا دارای بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز بودند و با بقیه تیمارها تفاوت معنی داری داشتند. با این حال، بین تیمارهای بایوگارد و تریکودرما به تنهایی و قارچ رازیوکتونیا تفاوت معنی داری مشاهده نشد. کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز در تیمار شاهد مشاهده شد که با تیمارهای تریکودرما و بایوگارد به تنهایی اختلاف معنی داری داشت (شکل ۳). پراکسیدازهای گیاهی از جمله آنزیم‌هایی هستند که به طور گسترده در گیاهان، میکروارگانیسم‌ها و حیوانات فعالیت دارند. پراکسیدازهای گیاهی نقش‌های متعددی از جمله دخالت در بیوستز لیگنین، متابولیسم اکسین، رشد سلول، ایجاد اتصالات عرضی دیواره سلول و بخصوص پاسخ به تنش‌های محیطی دارند. از آنجا که در تمامی فرآیندهای فیزیولوژیک گیاهی، پراکسید هیدروژن تولید می‌شود و با توجه به عملکرد پراکسیدازها برای برداشتن این مولکول از سلول گیاهی، لذا پراکسیدازها، گزینه خوبی برای پیگیری مسیر مقابله سلول با عوامل تنش‌زا و روبرویی با موقعیت‌هایی نظیر تنش اکسیداتیو به شمار می‌روند (Pandey et al. 2017). طی بررسی‌های انجام شده توسط پژوهشگران مشخص شده است که آنزیم‌های زیادی از جمله آنزیم پراکسیداز با القای مقاومت گیاهان در ارتباط هستند (Silva et al. 2004). طبق بررسی‌های مختلف پژوهشگران فعالیت آنزیم پراکسیداز را به عنوان مارکر بیوشیمیایی جهت پیش بینی مقاومت معرفی کرده اند که ممکن است به طور مستقیم یا غیرمستقیم در سازوکارهای دفاعی نقش داشته باشد. به عنوان مثال، نقش مستقیم آن در واکنش‌های دفاعی واریته‌های مقاوم گیاهان به اثبات رسیده است (Lehrer, 1969). همچنین، مطالعات نشان داده‌اند که فعالیت آنزیم پراکسیداز با فعال شدن مقاومت القایی سیستمیک در ارتباط است (Hammerschmidt and Kuć 1982). پراکسیدازها اثر مستقیم در مقاومت دارند و از طریق تولید رادیکال آزاد و پراکسید هیدروژن که برای بعضی بیمارگرها سمی هستند، منجر به دفاع در برابر بیمارگرها می‌شوند (Liu and

Ekramoddoullah, 2006). در بررسی کارایی قارچ *Beauveria bassiana* برای مهار زیستی گیاهچه میری رازیوکتونیایی گیاه پنبه مشخص گردید که آنزیم پراکسیداز و پروتئین کل گیاه جدایه KJ24 با غلظت 10^7 اسپور در میلی لیتر بیشترین فعالیت و مقدار را دارا بوده و به عنوان مناسب‌ترین تیمار در کنترل این بیماری شناخته شد (Azadi et al. 2017). سطح فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در گیاه لوبیا تیمار شده با تریکودرما در مقایسه با گیاهان تیمار نشده افزایش زیادی داشت (Abd-El-Khair et al. 2010). القای مقاومت گیاه توسط میکروارگانیسم‌ها یکی از مکانیسم‌های کنترل بیولوژیک است. گونه‌های قارچ تریکودرما موجب القای مقاومت در گیاهان در مقابل پوسیدگی رازیوکتونیایی ریشه می‌شوند (Abbas et al. 2022). مرتضی نیا و همکاران (۱۳۸۹) در بررسی‌های خود نشان دادند که تیمار گیاه خیار با *T. harzianum* Bi با افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز باعث القا مقاومت گیاهچه‌های خیار در برابر بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه خیار ناشی از *Pythium aphanidermatum* شده است (Mortezania, et al., 2010). قارچ‌های تریکودرما با ترشح آنزیم و هورمون، افزایش سطح یا فعالیت آنزیم پراکسیداز، بتا-۱ و ۳ گلوکاناز و میزان فنل، ترشح پروتئین و تولید کیتینازهای خارجی و گلوکانازها موجب کنترل عوامل بیماری‌زای خاکزی از جمله قارچ رازیوکتونیا می‌شود (Darvishnia and Moosavian 2019). القای مقاومت در گیاه توسط تریکودرما نه تنها در برابر بیمارگرها، بلکه در برابر آفات گیاهی هم می‌تواند کارایی داشته باشد، چنانکه بدخشان و همکاران (۱۴۰۱) در بررسی تأثیر قارچ *Trichoderma harzianum* T22 بر مقاومت القایی گیاه گوجه-فرنگی نسبت به *Helicoverpa armigera* نشان دادند در گیاهان تیمار شده با قارچ تریکودرما فعالیت آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز و کاتالاز و مقادیر پرولین و پراکسید هیدروژن گیاه به طور معنی داری نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافته و طول دوره لاروی و درصد مرگ و میر لاروها روی گیاهان تیمار شده به طور معنی داری بیشتر از گیاهان شاهد بود (Badakhshan, et al., 2022). الداغی و همکاران (۱۴۰۰) هم نشان دادند که تیمار گیاه گوجه-فرنگی با استرین *T. harzianum* Tr6 سبب افزایش غلظت فنول کل و القای مقاومت نسبت به گیاه‌خواری

قطرات عسلک تولید شده نسبت به گیاهان شاهد کاهش معنی داری یافت (Aldaghi et al., 2021)

سفیدبالک (*Trialeurodes vaporariorum*) گردید و میانگین تعداد حشرات بالغ در پشت برگ، تخمهای گذاشته شده و میزان



شکل ۳- تأثیر تیمارهای بازدارندگی کننده از رشد قارچ *Rhizoctonia solani* بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در لوبیا چیتی.
Fig. 3. The effect of treatments inhibiting the growth of *R. solani* on the activity of peroxidase enzyme in Chitti bean.

جدایه *R. solani* که شدت بیماری زائی بالائی هم داشت و باعث مرگ گیاهچه می شد را کنترل کنند. شاخص های رشدی گیاهان تیمار شده به طور معنی داری بیشتر از گیاهان تیمار نشده (شاهد) بود. این جدایه از قارچ تریکودرما سبب کنترل بیماری و رشد بهتر رویشی گیاهان تیمار شده نسبت به شاهد شد. به نظر می رسد که استفاده از *T. harzianum* و فرآورده زیستی آن باعث تحریک و تقویت سیستم دفاعی گیاه در برابر بیمارگر *R. solani* می شود. از اینرو، به منظور کاهش کاربرد سموم شیمیائی بهتر است از میکروارگانیسم های مفید خاک از جمله قارچ *Trichoderma harzianum* به عنوان رهیافتی امیدوارکننده در کنترل زیستی بیماری های گیاهی استفاده شود.

نتیجه گیری کلی

قارچ های جنس *Trichoderma* spp. علاوه بر فعالیت بیوکنترلی بیمارگرهای گیاهی از طریق آنتی بیوزیز و ترشح متابولیت ها و آنزیم های مختلف، می توانند از طریق تحریک سیستم دفاعی گیاه، آنرا در برابر بیمارگرها و حتی آفات گیاهی مقاوم کنند. با توجه به مشکلات روشهای شیمیائی در کنترل بیماری پوسیدگی ریشه لوبیا و خطرات زیست محیطی آن، استفاده از عامل بیوکنترل *Trichoderma harzianum* و محصولات بیولوژیکی حاصل از آن که کاربرد آنها آسان تر هم است، می تواند گزینه امیدوارکننده ای برای مدیریت این بیماری خاکزاد باشد. در این پژوهش مشخص شد که *T. harzianum* و محصول تجاری بایوگارد توانستند بطور قابل توجهی بیماری پوسیدگی ریشه و بومیرری لوبیا ناشی از

References

- Abawi, G. S., Pastor, C., & Marcial, A. (1990). Root rots of beans in latin America and Africa: Diagnosis, research methodologies, and management strategies. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia: 114 p.
- Abbas, A., Mubeen, M., Zheng, H., Sohail, M. A., Shakeel, Q., Solanki, M. K., Iftikhar, Y., Sharma, S., Kashyap, B. K., Hussain, S., del Carmen Zuniga Romano, M., Moya-Elizondo, E. A., & Zhou, L. (2022). *Trichoderma* spp. genes involved in the biocontrol activity against *Rhizoctonia solani*. Frontiers in Microbiology, 13, 884469. doi: 10.3389/fmicb.2022.884469
- Abd-El-Khair, H., Khalifa, R. K. M., & Haggag, K. H. E. (2010). Effect of *Trichoderma* species on damping off diseases incidence, some plant enzymes activity and nutritional status of bean plants. Journal of American Science, 6(9), 486-497.

- Abo-Elyousr, K. A. M., Hussein, M. A. M., Allam, A. D. A., & Hassan, M. H. (2009). Salicylic acid induced systemic resistance on onion plants against *Stemphylium vesicarium*. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 42(11), 1042-1050. doi: 10.1080/03235400701621719
- Aldaghi, M., Allahyari, H., Hosseiniaveh, V., & Behboudi, K. (2021). Effect of *Trichoderma harzianum* Tr6 in inducing resistance in tomato against *Trialeurodes vaporariorum* (Hem.: Aleyodidae). Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 44(3), 107-117. doi: 10.22055/ppr.2021.17128
- Alizadeh, H. R., & Salari, K. (2016). Induction of systemic resistance (ISR) against *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* on cucumber by isolates of *Trichoderma* and fluorescent *Pseudomonads* from cucumber rhizosphere. Journal of Applied Research in Plant Protection, 5, 215-225. (In Farsi with English Abstract)
- Arnon, A. N. (1967). Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal, 23, 112-121.
- Asadi, F., Alaei, H., Saberi Rise, R. A., & Zeynadini, A. (2016). Biological control and systemic induction of peroxidase, polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia lyase by *Trichoderma* in cucumber with *Fusarium solani*. 3rd National Meeting on Biocontrol in Agriculture and Natural Resources of Iran, February 2-3, 2016, Ferdowsi University of Mashhad, Iran. (In Farsi with English Abstract)
- Azadi, N., Shirzad, A., & Mohammadi, H. (2017). Evaluation the *Beauveria* fungus efficiency on biological control of *Rhizoctonia* damping-off disease in cotton plants. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 5(2), 77-89. doi: 10.1001.1.25885073.1395.5.2.4.1
- Badakhshan, N., Mansouri, S. M., Habibi, A., Naseri, B., & Shakeri, S. (2022). Effect of *Trichoderma harzianum* strain T22 on induced resistance of tomato to *Helicoverpa armigera* Hübner. Journal of Iranian Plant Protection Research, 36(3), 313-325. doi: 10.22067/JPP.2022.76074.1086 (In Persian with English abstract)
- Barakat, R. M., Al-Mahareeq, F., Ali-Shtayeh, M. S., & Al-Masri, M. I. (2007). Biological control of *Rhizoctonia solani* by indigenous *Trichoderma* spp. isolates from Palestine. Hebron University Research Journal, 3(1), 1-15.
- Bauriegel, E., & Herppich, W. B. (2014). Hyperspectral and chlorophyll fluorescence imaging for early detection of plant diseases, with special reference to *Fusarium* spec. infections on wheat. Agriculture, 4(1), 32-57. doi: 10.3390/agriculture4010032
- Bayram, F. R., Boyraz, N., & Kesenci, K. (2022). Determination of disease severity and anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* isolates from chickpea plant in Konya Province. Selcuk Journal of Agriculture and Food Sciences, 36(3), 414-420. doi: 10.15316/SJA.FS.2022.055
- Benitez, T., Rincon, A. M., Limon, M. C., & Codon, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International Microbiology, 7(4), 249-260.
- Burmeister, L. (2008). The antagonistic mechanisms employed by *Trichoderma harzianum* and their impact on the control of the bean rust fungus *Uromyces appendiculatus*. Ph.D. Thesis. University of Hannover, Germany.
- Darvishnia, M., & Moosavian, M. (2019). Effect of fungal and bacterial biological agents on seedling damping-off of fungus disease. Journal of Crops Improvement, 21(3), 289-301. doi: 10.22059/jci.2019.272850.2140 (In Farsi with English Abstract)
- Dennis, C., & Webster, J. (1971). Antagonistic properties of species- groups of *Trichoderma* : I. production of volatile antibiotics. Transactions of the British Mycological Society, 57(1), 25-39. doi: 10.1016/S0007-1536(71)80077-3
- Duffy, B. K., Ownley, B. H., & Weller, D. M. (1997). Soil chemical and physical properties associated with suppression of take-all of wheat by *Trichoderma koningii*. Phytopathology, 87(11), 1118-1124. doi: 10.1094/PHYTO.1997.87.11.1118
- Elad, Y., Chet, I., & Katan, J. (1980). *Trichoderma harzianum*: a biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. Phytopathology, 70, 119-121. doi: 10.1094/PHYTO-70-119
- Gholamnezhad, J. (2019). Effect of plant extracts on activity of some defense enzymes of apple fruit in interaction with *Botrytis cinerea*. Journal of Integrative Agriculture, 18(1), 115-123. doi: 10.1016/S2095-3119(18)62104-5
- Hajabdollahi, N., Saberi Riseh, R., Khodaygan, P., Moradi, M., & Moslemkhani, K. (2020). Effect of different population of some probiotic bacteria in amount of defence enzymes, microelements uptake, chlorophyll and carotenoids in pistachio. Biological Control of Pests & Plant Diseases, 9(1), 75-91. doi: 10.22059/JBIOC.2021.315434.300 (In Farsi with English Abstract)
- Hammerschmidt, R., & Kuc, J. (1982). Lignification as a mechanism for induced systemic resistance in cucumber. Physiological Plant Pathology, 20(1), 61-71. doi: 10.1016/0048-4059(82)90024-8
- Harman, G. E. (2000). Myths and dogmas of biocontrol, changes in perceptions driven from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Disease, 84(4), 377-393. doi: 10.1094/PDIS.2000.84.4.377
- Hosseinzeinali, A., Abbaszadeh Dahaji, P., Alaei, H., Hosseiniard, J., & Akhgar, A. (2020). Effect of *Trichoderma* on growth and nutrition of pistachio trees under common garden condition. Journal of Soil Biology, 8(2), 115-128. doi: 10.22092/SBJ.2020.122735 (In Farsi with English Abstract)
- Javanshir Javid, K., Mahdian, S. A., Behboudi, K., & Alizadeh, H. R. (2016). Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* by some *Trichoderma harzianum* isolates. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 49(17-18), 471-484. doi: 10.1080/03235408.2016.1242195
- Jayaraj, J., Anand, A., & Muthukrishnan, S. (2004). Pathogenesis-related proteins and their roles in resistance to fungal pathogens. In: Punja, Z. K., (ed.), Fungal Disease Resistance in Plant-Biochemistry, Molecular Biology and Genetic Engineering. Haworth Press; Binghamton, NY, USA, pp. 178-205.
- Khaledi, N., Taheri, P., & Falahati-Rastegar, M. (2016). Evaluation of phenylalanine ammonia lyase and lipoxigenase activities in wheat cultivars- *Fusarium graminearum* interaction. Proceedings of 22nd Iranian Plant Protection Congress, 27-30, August 2016, University of Tehran, Karaj, Iran. (In Farsi with English Abstract)
- Khodae, M., & Hemmati, R. (2016). Evaluation of *Trichoderma* isolates for biological control of *Rhizoctonia* root rot of Bean

- in Zanjan. Iranian Plant Protection Research, 29(4), 471-480. doi: 10.22067/JPP.V.29I4.20619 (In Farsi with English Abstract)
- Lehrer, R. I. (1969). Antifungal effects of peroxidase systems. Journal of Bacteriology, 99(2), 361-365. doi: 10.1128/jb.99.2.361-365
- Lewis, J. A., & Lumsden, R. D. (2001). Biocontrol of damping-off of greenhouse-grown crops caused by *Rhizoctonia solani* with a formulation of *Trichoderma* spp. Crop Protection, 20(1), 49-56. doi: 10.1016/S0261-2194(00)00052-1
- Liu, J. J., & Ekramoddoullah, A. K. M. (2006). The family 10 of plant pathogenesis-related proteins: their structure, regulation, and function in response to biotic and abiotic stresses. Physiological and Molecular Plant Pathology, 68(1-3), 3-13. doi: 10.1016/j.pmp.2006.06.004
- Lorito, M., Farkas, V., Rebuffat, S., Bodo, B., & Kubicek, C. P. (1996). Cell wall synthesis is a major target of mycoparasitic antagonism by *Trichoderma harzianum*. Journal of Bacteriology, 178(21), 6382-6385. doi: 10.1128/jb.178.21.6382-6385
- Lumsden, R. D., Ridout, C. J., Vendemia, M. E., Harrison, D. J., Waters, R. M., & Walter, J. F. (1992). Characterization of major secondary metabolites produced in soilless mix by a formulated strain of the biocontrol fungus *Gliocladium virens*. Canadian Journal of Microbiology, 38(12), 1274-1280. doi: 10.1139/m92-210
- Matloob, A. H., & Juber, K. S. (2013). Biological control of bean root rot disease caused by *Rhizoctonia solani* under green house and field conditions. Agriculture and Biology Journal of North America, 4(5), 512-519.
- Mayo, S., Gutiérrez, S., Malmierca, M. G., Lorenzana, A., Piedad Campelo, M., Hermosa, R., & Casquero, P. A. (2015). Influence of *Rhizoctonia solani* and *Trichoderma* spp. in growth of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and in the induction of plant defense-related genes. Frontiers in Plant Science, 6, 685. doi: 10.3389/fpls.2015.00685.
- Mortezania, H., Rouhani, H., & Sahebani, N. (2010). Study of peroxidase enzyme activity induced by *Trichoderma harzianum* Bi in cucumber seedling and its effect in the control of root and foot rot. Iranian Plant Protection Research, 24(3), 258-268. doi: 10.22067/JPP.V24I3.7586 (In Farsi with English Abstract)
- Mosavi Mirak, L., Shirzad, A., & Mohammadi, D. (2019). Integrative effect of some synthetic fungicides with some biological agents in control of *Rhizoctonia solani* on cotton seedlings. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 8, 11-23. doi: 10.1001.1.25885073.1398.8.1.3.9 (In Farsi with English Abstract)
- Naseri, B. (2008). Root rot of common bean in Zanjan, Iran: major pathogens and yield loss estimates. Australasian Plant Pathology, 37, 546-551. doi: 10.1071/AP08053
- Nawrocka, J., Małolepsza, U., Szymczak, K., & Szczech, M. (2018). Involvement of metabolic components, volatile compounds, PR proteins, and mechanical strengthening in multilayer protection of cucumber plants against *Rhizoctonia solani* activated by *Trichoderma atroviride* TRS25. Protoplasma, 255(1), 359-373. doi: 10.1007/s00709-017-1157-1
- Oladad, A., Zitnick-Anderson, K., Jain, S., Simons, K., Osorno, J. M., McClean, P. E., & Pasche, J. S. (2019). Genotypes and genomic regions associated with *Rhizoctonia solani* resistance in common bean. Frontiers in Plant Science, 10, 956. doi: 10.3389/fpls.2019.00956
- Pandey, V. P., Awasthi, M., Singh, S., Tiwari, S., & Dwivedi, U. N. (2017). A comprehensive review on function and application of plant peroxidases. Biochemistry & Analytical Biochemistry, 6(1), 308. doi: 10.4172/2161-1009.1000308
- Papavizas, G. C. (1985). *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. Annual Review of Phytopathology, 23, 23-54. doi: 10.1146/annurev.py.23.090185.000323
- Rabbee, M. F., Hwang, B. S., & Baek, K. H. (2023). *Bacillus velezensis*: a beneficial biocontrol agent or facultative phytopathogen for sustainable agriculture. Agronomy, 13(3), 840. doi:10.3390/agronomy13030840
- Rezaloo, Z., Aliloo, A., Shahbazi, S., Sarajoughi, M., Karimi, E. (2024). Water and Soil Science 34 (3): 51-69. doi: 10.22034/ws.2023.54488.2532
- Rezaloo, Z., Shahbazi, S., & Askari, H. (2019). Induction of resistance related responses of *Phaseolus vulgaris* to *Rhizoctonia solani* by bio-fungicides. Crop Biotechnology, 8(4), 65-79. doi: 10.30473/CB.2019.42738.1752 (In Farsi with English Abstract)
- Rubio, M. B., Hermosa, R., Vicente, R., Gomez-Acosta, F. A., Morcuende, R., Monte, E., & Bettiol, W. (2017). The combination of *Trichoderma harzianum* and chemical fertilization leads to the deregulation of phytohormone networking, preventing the adaptive responses of tomato plants to salt stress. Frontiers in Plant Science, 8, 294. doi:10.3389/fpls.2017.00294
- Salahiostad, M., Abedi, B., & Selahvarzi, Y. (2022). The effect of *Trichoderma harzianum* on the biochemical properties and photosynthetic pigments of basil under drought stress. Iranian Journal of Horticultural Science, 52(4), 999-1009. doi: 10.22059/IJHS.2021.303476.1818 (In Farsi with English Abstract)
- Sallam Nashwa, A., Abo-Elyousr, K. A., & Hassan, M. A. (2008). Evaluation of *Trichoderma* species as biocontrol agents for damping-off and wilt diseases of *Phaseolus vulgaris* L. and efficacy of suggested formula. Egyptian Journal of Phytopathology, 36, 81-93.
- Shores, M., & Harman, G. E. (2008). The relationship between increased growth and resistance induced in plants by root colonizing microbes. Plant Signaling & Behavior, 3(9), 737-739. doi: 10.4161/psb.3.9.6605
- Silva, H. S. A., da Silva Romeiro, R., Macagnan, D., de Almeida Halfeld-Vieira, B., Baracat Pereira, M. C., & Mounteer, A. (2004). Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants: non-specific protection and increase in enzyme activities. Biological Control, 29(2), 288-295. doi:10.1016/S1049-9644(03)00163-4
- Smolińska, U., Kowalska, B., & Oskiera, M. (2007). The effectivity of *Trichoderma* strains in the protection of cucumber and lettuce against *Rhizoctonia solani*. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, 67(1), 81-93.
- Tavakol Norabadi, M., Sahebani, N., & Etebarian, H. R. (2014). Management of tomato wilt disease caused by *Fusarium*

- oxyssporum* f.sp. *lycopersici* with silicon and *Pesudomonas fluorescens* (CHAO) and assaying activity of phenylalanine ammonia lyase (PAL). Research in Plant Pathology, 2(3), 13-26. (In Farsi with English Abstract)
- Urbanek, H., Kuzniak-Gebarowska, E., & Herka, K. (1991). Elicitation of defence responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase. Acta Physiologiae Plantarum, 13(1), 43-50.
- Wang, J. W., Zheng, L. P., Wu, J. Y., & Tan, R. X. (2006). Involvement of nitric oxide in oxidative burst, phenylalanine ammonia-lyase activation and taxol production induced by low-energy ultrasound in *Taxus yunnanensis* cell suspension cultures. Nitric Oxide, 15(4), 351-358. doi: 10.1016/j.niox.2006.04.261
- Weindling, R. (1941). Experimental consideration of the mould toxin of *Gliocladium* and *Trichoderma*. Phytopathology, 31, 991-1003.
- 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