The University of Tehran Press

Biological Control of Pests and Plant Diseases

Online ISNN: 2322-2883

Homepage: https://jbiocontrol.ut.ac.ir/

The Effect of *Bacillus mycoides* on *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*, the causal agent of root and stem rot of greenhouse cucumber

Seyyed AlirezaE smaeilzadeh-Hosseini✉

Corresponding Author, Yazd Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO,Yazd, Iran.
E-mail: phytoplasma.iran@gmail.com

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received: 14 April 2024
Revised: 26 April 2024
Accepted: 23 May 2024
Published online: Spring 2023

Keywords:
Bacillus,
Biological control,
Antibiotic.

ABSTRACT

Root and stem rot of greenhouse cucumber due to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* causes a lot of damage to greenhouse cucumber every year. In this research, the *Bacillus mycoides* LUTUUS-AF1 (BmL) from Lotus Co. was compared to Pars Bacil internal biological fungicide (BvP) based on *Bacillus velezensis* bacteria and an imported biological fungicide (SAS) based on *Bacillus velezensis* (BvB) bacteria to evaluate its antagonistic ability in laboratory and under greenhouse conditions. The results showed that among the three samples in laboratory condition, *B. mycoides* strain exhibited the highest inhibitory power at 48%. The imported biological fungicide (SAS) and Pars Bacil treatments provided 30% and 29% inhibition against Fusarium fungus, respectively. In greenhouse conditions, the mortality rate in the control treatment was close to 70%. *B. mycoides* strain, at concentrations of 0.3% and 0.5% with three repetitions (0, 96, and 192 hours), demonstrated the best efficiency during the 50-day period, with disease incidence close to zero and no observed mortality in the plants. The BvB sample with a concentration of 0.5% and three repetitions (0, 96, and 192 hours) yielded similar results and both were significantly different from Pars Bacil. In general, due to the highest inhibitory power of BmL and effective control of Fusarium fungus in laboratory and under greenhouse conditions, domestic production and its availability at a more reasonable price, the concentration of 0.3 to 0.5% and its repetition three times are recommended. Overall, due to the strong inhibitory effect of *B. mycoides* in both laboratory and greenhouse conditions, further research is recommended for the production and commercialization of this bacterium.

Cite this article: Esmaeilzadeh-Hosseini, S. A. (2023). The Effect of *Bacillus mycoides* on *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum*, the causal agent of root and stem rot of greenhouse cucumber. *Biological Control of Pests and Plant Diseases*, 12 (1), 1-10. DOI: https://doi.org/10.22059/jbioc.2024.372232.340

© The Author(s).
Publisher: The University of Tehran Press.
DOI: https://doi.org/10.22059/jbioc.2024.372232.340

Extended Abstract

Introduction

The production of greenhouse crops is crucial in Iran due to its dry, low rainfall climate. However, high investments in this field are hindered by a lack of proper management in controlling pests and plant diseases, leading to reduced productivity. Among greenhouse products, greenhouse cucumber is a significant agricultural product in the country. According to statistics from the Ministry of Agricultural-Jihad, greenhouse cucumber production exceeded 1.9 million tons, with Tehran province at 39.4%, southern Kerman province at 21.3%, Yazd province at 13.4%, and Isfahan province at 8.1% ranking as the top producers. The lack of proper plant disease management, particularly fungal diseases, results in severe crop losses, such as root and stem rot caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* in greenhouse cucumbers annually. The rise in fungal diseases, especially in greenhouse crops, has led to excessive use of chemical pesticides, resulting in increased production costs, pathogenic resistance, environmental damage, and harm to the natural ecosystem. Additionally, the maximum residue limits of pesticides in agricultural products have negative effects on human and animal health, as well as on the export of agricultural products, causing irreparable damage to the country's economy, agricultural industry, and farmers' livelihoods. Biological control is an optimal method for managing plant diseases that aligns with environmental goals and poses less risk to human health and the environment.

In recent years, biological control agents, such as non-pathogenic bacteria like *Bacillus* strains, have been utilized to reduce the use of chemical toxins due to their ability to produce fungal inhibitory compounds. This research compares *Bacillus mycoides* LUTUUS-AF1 (BmL) from Lotus Co. with Pars Bacil internal biological fungicide (BvP) based on *Bacillus velezensis* bacteria and an imported biological fungicide (SAS) based on *Bacillus velezensis* (BvB) bacteria to assess their antagonistic abilities in laboratory and greenhouse conditions.

Materials and Methods

First, the inhibitory power of these three samples against *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* was investigated through cross-culture in PDA medium in a completely randomized design with four replications. Next, under greenhouse conditions, the ability of these three samples to control *Fusarium* stem and root rot disease in a 50-day growth period on greenhouse cucumbers was evaluated through a factorial experiment in a completely randomized design with 3 factors and 3 replications. The studied factors were: 1- Treatments (*Bacillus mycoides* strain LUTUUS-AF1, Pars Bacil based on *Bacillus velezensis*, and an imported biological fungicide (SAS) based on *Bacillus velezensis* (BvB) bacteria), 2- Different concentrations of bacterial treatments (0, 0.1, 0.3, and 0.5% of the concentration of $1*10^9$ cfu/ml for all three treatments with irrigation water), and 3- Application time of treatments (0, 96, and 192 hours).

Results and Discussion

The results showed a significant difference between the studied *Bacillus* species against the pathogen. Among the three samples, *B. mycoides* strain exhibited the highest inhibitory power at 48%, effectively controlling the growth of *Fusarium* fungus. The imported biological fungicide (SAS) and Pars Bacil treatments provided 30% and 29% inhibition against *Fusarium* fungi, respectively. In greenhouse conditions, the mortality rate in the control treatment was close to 70%. *B. mycoides* strain, at concentrations of 0.3% and 0.5% with three repetitions (0, 96, and 192 hours), demonstrated the best efficiency during the 50-day period, with disease incidence close to zero and no observed mortality in the plants. Despite a significant difference between *B. mycoides* and SAS, the latter at a concentration of 0.5% and three repetitions (0, 96, and 192 hours) yielded similar results. Both were significantly different from Pars Bacil, which showed the lowest mortality rate (approximately 8%) at a concentration of 0.5% and three repetitions.

Conclusion

Overall, due to the strong inhibitory effect of *B. mycoides* in both laboratory and greenhouse conditions, further research is recommended for the production and commercialization of this bacterium.

نشریه کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی، دوره ۱۲، شماره ۱

انتشارات دانشگاه تهران

شاپا الکترونیکی: ۲۴۲۳-۸۰۹۰

Homepage: https://jbiocontrol.ut.ac.ir/

اثر باکتری *Bacillus mycoides* بر *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* عامل پوسیدگی ریشه و ساقه خیارگلخانه‌ای

سید علیرضا اسمعیل زاده حسینی ✉

نویسنده مسئول، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یزد، ایران. رایانامه: phytoplasma.iran@gmail.com

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۲۶
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۲/۰۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۰۳
تاریخ انتشار: بهار ۱۴۰۲

کلیدواژه‌ها:
آنتی‌بیوتیک، باسیلوس، مهار زیستی.

چکیده

پوسیدگی ریشه و ساقه خیارگلخانه‌ای در اثر قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* هرساله خسارت فراوانی به خیارگلخانه‌ای وارد می‌کند. در این تحقیق از سویه *Bacillus mycoides* LUTUUS- (BmL) AF1 از شرکت لوتوس در مقایسه با قارچ‌کش بیولوژیک داخلی پارس‌باسیل (BvP) مبتنی بر باکتری *Bacillus velezensis* و یک قارچ‌کش بیولوژیک وارداتی (SAS) مبتنی بر باکتری *Bacillus velezensis* (BvB) برای مقایسه بررسی توانایی آنتاگونیستی آن در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای استفاده گردید. نتایج نشان داد که از بین سه نمونه مورد مطالعه، در شرایط آزمایشگاهی سویه BmL با ۴۸ درصد بازدارندگی در مقایسه با BvB و BvP به ترتیب با ۳۰ و ۲۹ درصد بیشترین بازدارندگی را علیه قارچ فوزاریوم ایجاد نمود. در شرایط گلخانه با مرگ و میر ۷۰ درصد بوته‌ها در تیمار شاهد سویه BmL با دو غلظت ۰/۳ و ۰/۵ درصد و با سه بار تکرار کاربرد دارای بهترین عملکرد بود و در دوره ۵۰ روزه وقوع بیماری نزدیک به صفر ارزیابی شد. نمونه BvB با غلظت ۰/۵ درصد و سه بار تکرار کاربرد نتیجه تقریبا مشابهی داشت و هر دو نمونه با BvP اختلاف معنی‌داری داشتند. به طور کلی با توجه به قدرت بالای بازدارندگی BmL و کنترل موثر قارچ فوزاریوم در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای، تولید داخل و در دسترس بودن آن با قیمت مناسب‌تر، غلظت ۰/۳ تا ۰/۵ درصد و سه بار تکرار آن توصیه می‌گردد. در مجموع با توجه به اثر بازدارندگی خوب *B. mycoides* در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای، تحقیقات برای تولید و تجاری‌سازی این باکتری توصیه می‌شود.

استناد: اسمعیل زاده حسینی، سیدعلیرضا (۱۴۰۲). اثر باکتری *Bacillus mycoides* بر *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-cucumerinum* عامل پوسیدگی ریشه و ساقه خیارگلخانه‌ای. *نشریه کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی*، ۱۲ (۱)، ۱۰-۱. DOI: https://doi.org/10.22059/jbioc.2024.372232.340

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: https://doi.org/10.22059/jbioc.2024.372232.340

مقدمه

در بین محصولات گلخانه‌ای، خیارگلخانه‌ای یکی از تولیدات مهم کشاورزی در کشور به خصوص استان یزد می‌باشد. از شایع‌ترین عوامل خاکزاد بیماری‌زای قارچی خیار گلخانه‌ای قارچ Fusarium oxysporum f. sp. radicis-cucumerinum عامل پوسیدگی ریشه و ساقه خیارگلخانه‌ای می‌باشد (Bardin and Gullino 2020). در سال‌های اخیر توجه به سمت کنترل بیولوژیک بیماری‌های خاکزاد به دلیل مصرف بی‌رویه سموم شیمیایی و خسارت به محیط زیست و ظهور مقاومت در جمعیت بیمارگر معطوف شده است. بسیاری از سویه‌های باسیلوس به عنوان عامل کنترل بیولوژیک با تولید ترکیبات آنتی‌بیوتیک مانع رشد قارچ‌های بیمارگر می‌شوند (Ran et al., 2023). در میان گونه‌های باسیلوس، سویه‌های B. mycoides یک گزینه مناسب به عنوان عامل کنترل بیولوژیک می‌باشد. با توجه به اهمیت بیماری پوسیدگی ریشه و ساقه فوزاریومی خیارگلخانه‌ای در ایران و نیز عدم کارآیی کافی سایر روش‌های مهار این بیماری، در این تحقیق اثر باکتری Bacillus mycoides strain LUTUUS-AF1 روی قارچ Forc در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای بررسی شد.

تازه‌های تحقیق

در این تحقیق توانایی آنتاگونیستی یک سویه از باکتری Bacillus mycoides در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای در مقایسه با دو قارچ‌کش بیولوژیک داخلی و وارداتی بر روی قارچ Fusarium oxysporum f.sp. radicis-cucumerinum (Forc) یکی از مهم‌ترین عوامل خاکزاد بیماری‌زای قارچی خیارگلخانه‌ای بررسی و با توجه به تاثیر خوب بازدارندگی آن در شرایط ذکر شده، تحقیقات برای تولید و تجاری‌سازی آن توصیه می‌گردد.

مواد و روش‌ها

باکتری‌های آنتاگونیست

در این تحقیق از باکتری B. mycoides strain LUTUUS-AF1 (BmL) که ژن16SrRNA آن تحت شماره دسترسی MT044256 در NCBI ثبت شده است استفاده گردید. به منظور بررسی مقایسه‌ای، از یک قارچ‌کش بیولوژیک ثبت شده داخلی (پارس‌باسیل مبتنی بر باکتری Bacillus velezensis (BvP) با فرمولاسیون سوسپانسیون از شرکت رویان تیسان سبز) و یک نمونه ثبت شده وارداتی (SAS) مبتنی بر باکتری B. velezensis (BvB) با فرمولاسیون SC استفاده شد.

بررسی تأثیر سویه باکتری آنتاگونیست در شرایط آزمایشگاهی

برای بررسی فعالیت ضد قارچی سویه‌های باکتریایی مورد مطالعه بر علیه قارچ Forc از روش کشت متقابل بر روی محیط کشت PDA و در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار استفاده شد. در این روش از آب مقطر استریل به عنوان شاهد استفاده شد. پرگنه‌ای از قارچ بیمارگر در وسط تشتک پتری حاوی محیط کشت PDA قرار داده شد. سپس دیسک‌هایی از باکتری در فاصله یک سانتی‌متری از لبه پتری و 3 سانتی‌متری پرگنه قارچ قرار داده شد. در فواصل زمانی مختلف شعاع هاله بازدارندگی از روبرو، سمت چپ و راست دیسک یادداشت برداری شد (Martí et al., 2018; Khan et al., 2018). برای بررسی توانایی آنتاگونیستی بر اساس فرمول D1-D2/D1*100 از دو شاخص میانگین قطر رشد میسلیوم در شاهد (D1) و میانگین قطر رشد میسلیوم در تیمار (D2) در محیط هم‌کشتی استفاده گردید. اندازه‌گیری در 4 زمان 3، 5، 7 و 9 روز صورت گرفت و داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری R تجزیه و تحلیل و گروه‌بندی تیمارها با استفاده از آزمون توکی در سطح یک درصد انجام گرفت.

تهیهٔ مایه تلقیح بیمارگر و باکتری

مایه تلقیح قارچ بیماری‌زای Forc روی گندم‌های سترون شده به روش اباوی و لوربیر (Abawi and Lorbeer 1972) با افزودن ۱۱ قرص آگار یک سانتیمتری از کشت جوان قارچ روی محیط کشت PDA تهیه شد. فلاسک‌ها پس از مایه‌زنی، به

مدت ۴ هفته در دمای 22 درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. برای تهیه مایه تلقیح باکتریایی، سه سویه باکتریایی مورد مطالعه در داخل محیط مایع مغذی (Nutrient broth) کشت و به مدت 48 ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۱۸۰ دور در شیکرانکوباتور قرار داده شد. جمعیت باکتری در هر سه نمونه مورد بررسی (1-1011 CFU ml×1) تنظیم شد.

کشت بذور خیار و اعمال تیمارهای مختلف

خاک استریل شده‌ی گلدان‌ها به جز تیمار شاهد، به نسبت 10 درصد حجمی با مایه تلقیح Forc مخلوط شدند. جهت تیمار شاهد فقط خاک و دانه‌های گندم به همان مقدار بدون اینوکلوم Forc استفاده شد. آنتاگونیست‌ها به دو صورت بذرمال و اضافه نمودن همراه با آب آبیاری استفاده شد. بذور خیارگلخانه‌ای رقم نگین (محصول شرکت انزا زادن هلند) و حساس به بیماری پوسیدگی ریشه و ساقه فوزاریومی خیارگلخانه‌ای در مرحله اول به مدت 20 دقیقه توسط هر کدام از تیمارها به صورت جداگانه آغشته‌سازی و سپس در هر گلدان کاشته و گلدان‌های خیار در گلخانه با شرایط نوری 16ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، رطوبت نسبی ۵۰ تا ۷۰ درصد و دمای 4±25درجه سلسیوس نگهداری شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه فاکتور و سه تکرار اجرا شد که فاکتورهای مورد بررسی عبارت بودند از؛ 1- تیمارها (باکتری محصول شرکت لوتوس، قارچ‌کش بیولوژیک پارس‌باسیل و یک نمونه ثبت شده وارداتی)، ۲-غلظت‌های مختلف تیمارها (محلول‌های 0 درصد حجمی (۰ CFU ml-1)، 0/1 درصد حجمی (1×۱۰۸ CFU ml-1)، 0/3 درصد حجمی (۳×۱۰۸ CFU ml-1) و 0/5 درصد حجمی (۵×۱۰۸ CFU ml-1) از غلظت 1×109 CFU ml-1 برای هر سه تیمار همراه با ۱۰۰ میلی لیتر آب آبیاری استفاده شدند) ، 3- تکرار کاربرد تیمارها (یک‌بار، دوبار و سه بار) همزمان با شروع کشت در زمان‌های (0، 96 و 192 ساعت) مورد استفاده قرار گرفت.

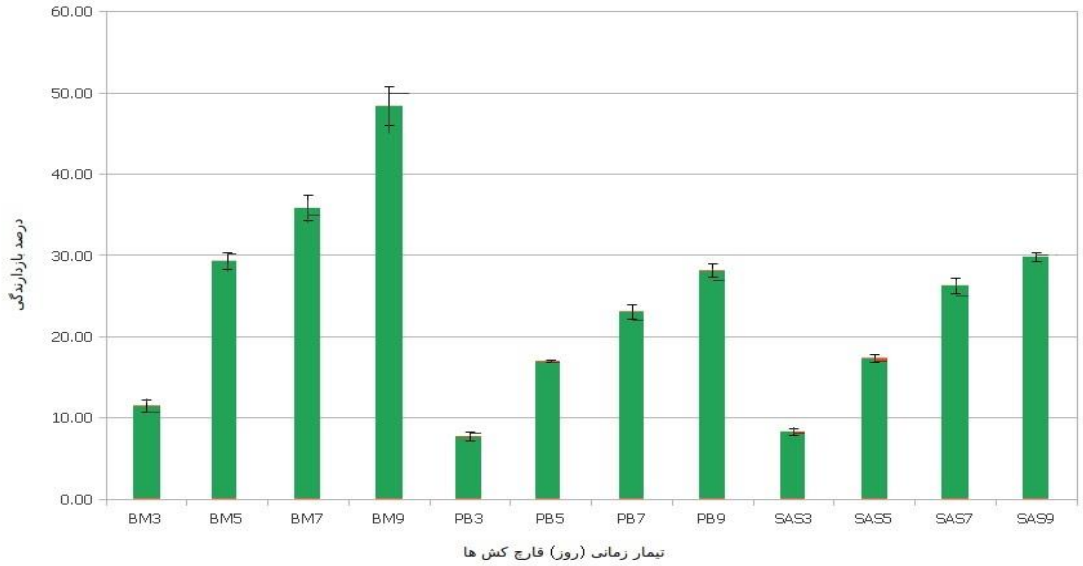
تعیین شاخص بیماری

شاخص بیماری 50 روز بعد از تلقیح بر اساس زردی و پژمردگی برگ‌ها در پنج بوته از هر تکرار با جمع رتبه‌ها و امتیازدهی از صفر تا بیست بر اساس روش گراتیج و اوبراین (Grattidge and O'Brien 1982) تعیین شد. رتبه‌ها به این صورت اندازه‌گیری شد. رتبه صفر: 0-24% از برگ‌ها زرد و پژمرده. رتبه یک: 25-49% از برگ‌ها زرد و پژمرده. رتبه دو: 50-74% از برگ‌ها زرد و پژمرده. رتبه سه: 75-99% از برگ‌ها زرد و پژمرده. رتبه چهار: 100% مرگ گیاه.

نتایج و بحث

بررسی اثر آنتاگونیستی تیمارهای مورد مطالعه بر روی قارچ بیمارگر در شرایط آزمایشگاه

در این مطالعه تمامی سویه‌های باکتریایی مورد مطالعه اثر مثبتی در کنترل رشد قارچ داشتند و هیچ تماس فیزیکی بین قارچ فوزاریوم و باکتری‌های آنتاگونیست مشاهده نشد. نتایج تحلیل واریانس داده‌ها نشان داد که در میان سه گروه تیمارها تفاوت معناداری وجود دارد و دلالت بر تاثیر معنی‌دار تیمارها بر متغیرهای مورد بررسی داشت. تنها سویه B. mycoides پس از روز هفتم همچنان دارای اثر بازدارندگی با قدرت بالا بود و در دو سویه دیگر پس از روز هفتم اثر بازدارندگی با قدرت بالا مشاهده نگردید. مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار با زمان نشان داد که بیشترین قدرت بازدارندگی رشد مربوط به سویه B. mycoides بود. قدرت بازدارندگی این سویه در روزهای هفتم و نهم به ترتیب 38 و 48 درصد بود و با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت اما دو نمونه دیگر در روز نهم با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشتند (شکل ۱).



شکل ۱. مقایسه میانگین درصد بازدارندگی رشد قارچ Fusarium oxysporum f. sp. radicis-cucumerinum تحت تاثیر سه سویه باکتریایی مورد استفاده ۱- باکتری محصول شرکت لوتوس به نام B. mycoides **(BM)**، ۲- قارچکش بیولوژیک پارس باسیل محصول شرکت رویان تیسان سبز مبتنی بر باکتری Bacillus velezensis **(PB)** و ۳- نمونه ثبت شده وارداتی (SAS) مبتنی بر باکتری B. velezensis در تکرار کاربرد تیمارها (یک‌بار، دوبار و سه بار) با استفاده از آزمون توکی در سطح معنی‌داری ۱ درصد.

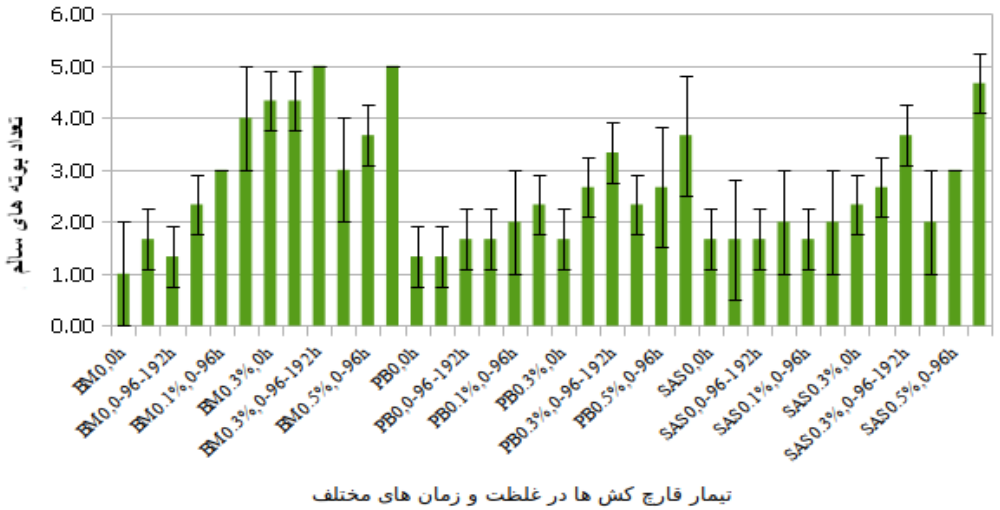
جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس درصد بازدارندگی رشد قارچ Fusarium oxysporum f. sp. radicis-cucumerinum تحت تاثیر سویه B. mycoides **(BM)**، قارچکش بیولوژیک پارس باسیل **(PB)** و نمونه ثبت شده وارداتی **(SAS)**.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	CV
تیمار	2	718**	
زمان	3	1506**	4/534882
تیمار: زمان	6	58/1**	
خطا	36	1/1	

در مقایسه با سایر عوامل مهم بیوکنترل مثل باکتری Bacillus subtilis، سویه B. mycoides در شرایط آزمایشگاهی اثربخشی بیشتری داشته به طوری که سویه B. subtilis RP24 جداسازی شده از لوبیا قادر بوده است که بر علیه قارچ پیتیوم و فوزاریوم قطر هاله عدم رشد به ترتیب برابر ۷/۵ و ۷/۸۵ میلی‌متر را با استفاده از روش چاهک‌گذاری ایجاد کند (Grover 2010) که در مقایسه با سویه B. mycoides مورد مطالعه در این تحقیق که قطر هاله در روش هم‌کشتی در حدود ۲۸ میلی‌متر مشاهده شد بسیار کمتر بوده که این تفاوت می‌تواند به علت قدرت رشد بسیار بالای باکتری B. mycoides و توانایی تولید بالاتر ترکیبات ضد قارچی مانند ایتورین و فنجیسین باشد. در یک مطالعه آزمایشگاهی با ۴ سویه B. mycoides روی محیط کشت PDA تمامی سویه‌های B. mycoides مورد مطالعه قادر به مهار رشد میسلیومی و تولید اسپور قارچ Forc در محیط کشت PDA بودند و بیشترین میزان کاهش رشد میسلیومی ۷۱ درصد بود (Mirabolfathy et al., 2009). با توجه به نتایج به دست آمده از این مطالعه و اثر بخشی خوب سویه B. mycoides بر روی قارچ Forc و همچنین سایر نتایج به دست آمده بر روی دیگر قارچ‌های بیماری‌زا و عوامل مخرب در صنایع غذایی در شرایط آزمایشگاهی که تاثیر مناسبی داشته است اثر بخشی باکتری B. mycoides به خصوص در مقابل عوامل بیماری‌زای گیاهی خاکزاد محرز و ادامه تحقیقات برای تولید و تجاری‌سازی این باکتری توصیه می‌شود.

بررسی گلخانه‌ای

در شرایط گلخانه‌ای هر سه تیمار دارای قدرت بالایی در کنترل بیماری پوسیدگی ریشه و ساقه بودند (شکل ۲). آنالیز واریانس داده‌های مربوط به اندازه‌گیری وقوع بیماری نشان داد که اثرات متقابل تیمار در زمان و غلظت در زمان معنی‌دار بود ولی اثر متقابل تیمار در غلظت در زمان معنی‌دار نبود (جدول 2). محصول SAS و سویه B. mycoides (در غلظت نیم درصد و سه بار تکرار) با کنترل 100 درصدی قارچ Forc در شرایط گلخانه و سالم نگه داشتن گیاهچه‌ها تا پایان آزمایش بهترین تیمارها در مقایسه با شاهد (با مرگ و میری در حدود 70 درصد) بودند. برای سویه B. mycoides بین غلظت 0/1، 0/3 و 0/5 درصد در سطح 5 درصد اختلاف معنی‌دار بود و غلظت 0/5 درصد دارای بیشترین قدرت کنترل کنندگی بود و از لحاظ تعداد کاربرد بیشترین اثربخشی و سلامت گیاه در تیمار کاربرد در سه زمان 0، 96 و 192 ساعت مشاهده گردید به نحوی که با افزایش تکرار (سه بار تکرار) میزان آلودگی کاهش چشم‌گیری داشت و به صفر رسید. می‌توان گفت که در غلظت‌های 0/3 و 0/5 درصد و سه بار تکرار کاربرد 100 درصد بوته‌ها تا انتهای آزمایش سالم بودند. در نمونه SAS نیز در غلظت ۰/۵ درصد و سه بار تکرار نتایج تقریباً مشابهی با B. mycoides داشت و دارای بیشترین قدرت کنترل کنندگی بود و میزان مرگ و میر در آن در حدود دو درصد بود با کاهش تکرار به ۲ بار تکرار میزان مرگ و میر به ۱۳ درصد و با کاهش غلظت به ۰/۳ درصد میزان مرگ و میر به ۸ درصد افزایش یافت. در نمونه پارس باسیل در غلظت ۰/۵ درصد و سه بار تکرار دارای مرگ و میری در حدود ۸ درصد بود اما با کاهش تکرار و غلظت میزان مرگ و میر در این تیمار به سرعت افزایش داشت به نحوی که با کاهش غلظت به ۰/۳ درصد میزان مرگ و میر به ۱۱ درصد و در غلظت 0/5 با کاهش تکرار به دو بار میزان مرگ و میر به ۱۶درصد افزایش یافت. در بررسی‌های انجام شده مشابه این تحقیق بر روی پژمردگی فوزاریومی خیار در اثر قارچ F. oxysporum در شرایط گلخانه‌ای، سویه‌ای از باکتری B. mycoides با غلظت 10^8 CFU ml-1 الی 10^9 موجب کاهش معنی‌داری در وقوع و شدت بیماری شد و نشان داد امکان استفاده از این سویه به عنوان عامل زیستی مناسب برای کنترل بیماری مذکور وجود دارد (Tajrizi et al., 2009). با توجه به نتایج این تحقیق که سویه B. mycoides روی بیماری پوسیدگی ریشه و ساقه خیار در اثر قارچ Forc اثر خوبی داشت و غلظت 0/5 درصد با سه بار تکرار دارای بیشترین قدرت کنترل کنندگی بود و همچنین با توجه به تاثیر خوب سویه B. mycoides بر روی پژمردگی فوزاریومی خیار (Tajrizi et al., 2009) به نظر می‌رسد این سویه نقش بیوکنترلی مهمی در برابر قارچ فوزاریوم دارد و نویدبخش تولید یک قارچ‌کش بیولوژیک است.



شکل ۲. تعداد بوته‌های سالم تحت تیمار سه سویه باکتریایی مورد استفاده ۱- باکتری محصول شرکت لوتوس به نام B. mycoides (BM)، ۲- قارچکش بیولوژیک پارس باسیل محصول شرکت رویان تیسان سبز مبتنی بر باکتری Bacillus velezensis (PB) و ۳- نمونه ثبت شده وارداتی (SAS) مبتنی بر باکتری B. velezensis در برابر بیماری پوسیدگی ریشه و ساقه ناشی از قارچ Forc در شرایط گلخانه

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر وقوع بیماری در بوته‌های خیار تحت تیمار سویه‌های Bacillus mycoides از شرکت لوتوس (BM)، قارچکش بیولوژیک پارس باسیل (PB) و نمونه ثبت شده وارداتی (SAS) بر علیه قارچ Fusarium oxysporum f. sp. radicis-cucumerinum در شرایط گلخانه

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
تیمار	۲	۱۰/۵۶۴۸**
غلظت	۳	۱۹/۸۳۶۴**
زمان	۲	۸/۴۸۱۵**
تیمار * غلظت	۶	۱/۸۳۶۴**
تیمار * زمان	۴	۰/۰۳۷۰
غلظت * زمان	۶	۱/۷۵۳۱**
تیمار * غلظت * زمان	۱۲	۰/۳۶۴۲

ارزیابی شاخص بیماری

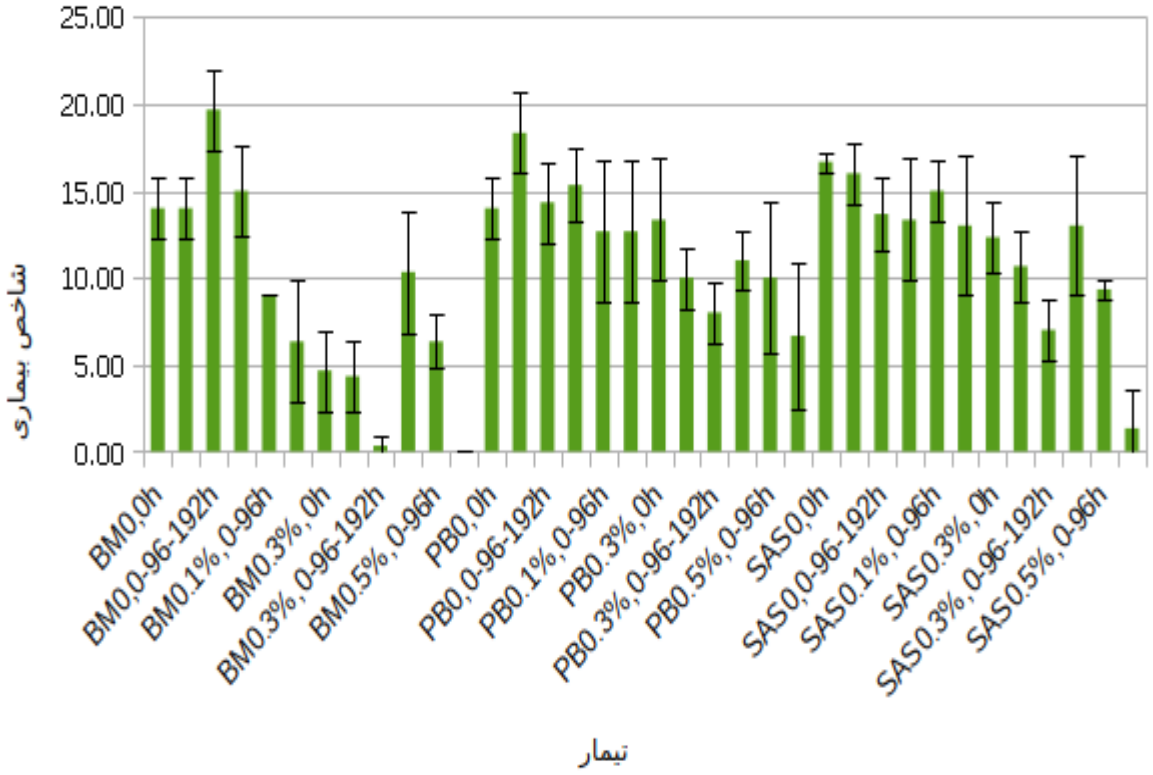
نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به اندازه‌گیری شاخص بیماری بیانگر معنی‌داری اثر متقابل تیمار، غلظت و تکرار کاربرد در سطح 1٪ بود (جدول 3) بر اساس نمودار شکل ۳ سویه B. mycoides و نمونه SAS دارای سالم‌ترین بوته طی 50 روز در تیمار ۰/۵ درصد با سه بار تکرار بودند به نحوی که شاخص بیماری در این تیمارها صفر بود و تمام تکرارها تا پایان دوره آزمایش سالم بودند. در مطالعه‌ای تأثیر تیمار بذر گوجه‌فرنگی با سوسپانسیون سه سویه باکتریایی شامل Bacillus mycoides، B. subtilis و Pseudomonas fluorescens بر کنترل بیماری پژمردگی گوجه‌فرنگی توسط قارچ Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici در شرایط گلخانه‌ای بررسی شد. در این تحقیق تیمار بذر با سه سویه مذکور منجر به کاهش معنی‌دار شاخص بیماری و افزایش محصول در مقایسه با تیمار شاهد گردید. در آزمایش‌های مزرعه‌ای تیمار بذر و ریشه‌ها با سوسپانسیون B. mycoides موجب کاهش معنی‌دار شاخص بیماری و افزایش محصول گردیده است و این سویه دارای اثربخشی بالایی در کنترل بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی بوده (Khan and Doohan 2009) که با نتایج مطالعات این تحقیق همخوانی و حاکی از تاثیر خوب این سویه باکتری بر قارچ فوزاریوم است.

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس شاخص بیماری در بوته‌های خیار تحت تیمار سویه‌های مورد بررسی. سویه Bacillus mycoides از شرکت لوتوس (BM)، قارچکش بیولوژیک پارس باسیل (PB) و نمونه ثبت شده وارداتی (SAS) 50 روز پس از تلقیح بوته‌ها با قارچ Forc.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	CV
تیمار	۲	۱۳۳/۷۸***	۲۳/۵۳۳۷۲
غلظت	۳	۴۰۸/۱۱***	
تکرار کاربرد	۲	۱۶۱/۱۵***	
تیمار:غلظت	۶	۲۹/۲۹**	
تیمار:زمان	۴	۶/۸۷	
غلظت:زمان	۶	۳۸/۳۶***	
تیمار:غلظت:زمان	۱۲	۱۶/۹۹**	

دو تیمار B. mycoides در غلظت ۰/۳ و ۰/۵ درصد و محصول SAS در غلظت ۰/۵ درصد با سه بار تکرار کاربرد بهترین کارآیی را در کنترل بیماری از خود نشان دادند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بین نتایج حاصله از آزمون‌های آزمایشگاهی و گلخانه‌ای همخوانی نسبی وجود دارد. با این حال نمونه قارچ‌کش وارداتی بر خلاف نتایج آزمایشگاهی که عملکردی نزدیک به نمونه پارس باسیل داشت در شرایط گلخانه با غلظت ۰/۵ درصد و سه بار تکرار) عملکرد بهتری در کنترل بیماری نشان داد که این می‌تواند به دلیل توانایی بالای رقابت با سایر میکروارگانیسم‌ها در شرایط محیط طبیعی و همچنین تولید سطح بالاتری از مواد ضد میکروبی باشد که باعث جلوگیری از رشد و فعالیت قارچ گردیده است. در نمونه پارس‌باسیل

بین نتایج گلخانه‌ای و آزمایشگاهی همخوانی نسبی مشاهده شد. بر اساس نتایج این تحقیق و با توجه به اثر بازدارندگی B. mycoides در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای بر روی Forc یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای قارچی خاکزاد خیارگلخانه‌ای، تحقیقات برای تولید و تجاری‌سازی آن توصیه می‌گردد.



شکل ۳. شاخص بیماری ۵۰ روز پس از تلقیح بوته‌ها با قارچ *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-cucumerinum* بر اساس روش گراتیچ و اوبراین (1982)

تشکر و سپاسگزاری

این مقاله قسمتی از نتایج به دست آمده از پروژه تحقیقاتی مصوب سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی به شماره 991313- 138- 16- 64-24 می‌باشد که از آن سازمان و موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور تشکر و سپاسگزاری می‌شود.

REFERENCES

Abawi GS, Lorbeer JW (1972). "Several Aspects of the Ecology and Pathology of Fusarium oxysporum f. sp. cepae." Phytopathology 62 (8): 870–76.

Bardin M, Gullino ML (2020). "Fungal Diseases." In Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops, edited by Maria Lodovica Gullino, Ramon Albajes, and Philippe C. Nicot, 55–100. Cham: Springer International Publishing.

Grattidge R, O'Brien RG (1982). Occurrence of a third of Fusarium wilt of tomatoes in Queensland. Plant Disease 66: 165-166.

Grover M (2010). "Bacillus subtilis RP24: A Potent Biocontrol Agent for Fusarium Udum Causing Pigeonpea Wilt." Plant Growth Promotion by Rhizobacteria for Sustaianble Agriculture, 432.

Khan MR, Doohan FM (2009). Biological control of Fusarium wilt of tomato under glasshouse

conditions using bacterial antagonists. BioControl 54(4): 525-532.
Khan N, Martínez-Hidalgo P, Tyler A, Maymon M, Humm EA, Nejat N, Sanders ER, Kaplan D, Hirsch AM (2018). Antifungal Activity of Bacillus Species against Fusarium and Analysis of the Potential Mechanisms Used in Biocontrol. Frontiers in Microbiology 9: 2363.
Martí M, Frígols B, Serrano-Aroca A (2018). Antimicrobial Characterization of Advanced Materials for Bioengineering Applications. JoVE (Journal of Visualized Experiments), no. 138: e57710.
Mirabolfathy SM, Yakhchali AA, Zamanizadeh MR, Zarrini A (2009): Potential of Bacillus mycoides isolates for the biological control of Fusarium wilt of cucumber caused by Fusarium oxysporum f. sp. radicis-cucumerinum. Crop Protection 28(12): 1071-1076.
Ran J, Wu Y, Zhang B, Su Y, Lu N, Li Y, Liang X, Zhou X, Shi J (2023). "Paenibacillus Polymyxa Antagonism towards Fusarium: Identification and Optimisation of Antibiotic Production." Toxins 15 (2): 138.
Tajrizi M, Rahimian H, Etebarian HR (2009). Biological control of Fusarium root rot of greenhouse cucumber by Bacillus mycoides in Iran. Journal of Plant Protection Research 49(4): 395-400.