تأثیر آنتاگونیست‌های قارچی و باکتریایی بر برخی از عوامل پوسیدگی ریشه و طوقه خیار

سمیرا رئیسی دهکردی[۱]، ناصر پنجه‌که[۱*]، عبدالحسین طاهری[۲] و سید کاظم صباغ[۳]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۲/۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۸/۹)

چکیده

یکی از عوامل اصلی محدودکننده تولید خیار، بیماری‌های پوسیدگی ریشه و طوقه این گیاه است. با توجه به خاکزاد بودن این عوامل، مبارزه شیمیایی علیه آنها نه تنها کاملاً مؤثر نیست بلکه باعث تخریب محیط زیست نیز می‌شود. از جمله راه‌های مبارزه با این بیماری‌ها روش‌های کنترل بیولوژیک است. این پژوهش به‌منظور کنترل بیولوژیک بیماری‌های خاکزاد خیار انجام شده است. در این بررسی اثر بیوکنترلی گونه‌های *Trichoderma harzianum*، *T. virens*، *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus subtilis* علیه پوسیدگی‌های طوقه و ریشه خیار ناشی از *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum*، *Pythium aphanidermatum* و *Phytophthora melonis* در آزمایشگاه مورد پژوهش قرار گرفت. گونه *Trichoderma harzianum* که در آزمایشگاه بیش‌ترین درصد بازدارندگی از رشد عوامل بیماری‌زا را داشت، برای بررسی‌های گلخانه‌ای استفاده شد. بررسی شدت بیماری و اجزای عملکرد رقم نگین در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در تیمارهای مختلف با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد. بیش‌ترین درصد بازدارندگی در اثر متقابل با ۴۵/۸ درصد توسط *B.subtilis* در برابر *P. aphanidermatum* ایجاد شد. در گلخانه قارچ *Trichoderma harzianum* روی پوسیدگی فوزاریومی ریشه و ساقه خیار و بوته‌میری فیتوفترایی با ۳۲/۸ و ۱۸/۸ بیش‌ترین و کم‌ترین درصد کنترل بیماری را داشته است. تیمار گیاهان سالم تلقیح‌شده با تریکودرما بیش‌ترین افزایش اجزای عملکرد و گیاهان آلوده‌شده به پوسیدگی فوزاریومی کم‌ترین عملکرد را دارند. همبستگی قوی بین شاخص شدت بیماری و وزن تازه ریشه در تیمارهای مختلف مشاهده شد. بنابراین جدایه‌های آنتاگونیست قارچی و باکتریایی عملکرد مناسبی در کنترل بیماری‌های ریشه خیار داشتند.

واژه‌های کلیدی: بیماری‌های پوسیدگی ریشه و طوقه، کنترل بیولوژیک، *Trichoderma harzianum*، رقم نگین

مقدمه

خیار (*Cucumis sativus*) گیاهی از تیره کدوئیان و یکی از مهم‌ترین محصولات جالیزی است که با سطح زیر کشت حدود ۶۲۹۱ هکتار، ۶۹/۹ درصد سطح زیر کشت محصولات گلخانه‌ای را در ایران تشکیل می‌دهد (۱). با وجود کاربرد یافته‌های گیاه‌پزشکی حدود یک سوم محصولات کشاورزی توسط آفات و بیماری‌ها از بین می‌رود (۱۳). خیار نیز از این موضوع مستثنی نیست (۱۰). کشت مداوم، شرایط آب‌وهوایی

۱. گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل
۲. گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان
۳. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه یزد، یزد
* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: naserpanjeke@gmail.com

مساعد مناطق مختلف ایران و شرایط خاص گلخانه‌ها، سبب آلودگی این گیاه به عوامل مختلف بیماری‌زا از جمله قارچ‌های خاکزاد می‌شود که خسارت قابل توجهی را به این محصول وارد می‌کنند (۳۷).

بیماری‌های پوسیدگی ریشه و ساقه خیار با عامل *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum*، مرگ گیاهچه با عامل *Pythium aphanidermatum* و بیماری بوته‌میری جالیز با عامل *Phytophthora melonis* فاکتورهای مهم محدودکننده‌ای در کشت گلخانه‌ای هستند.

کنترل شیمیایی این عوامل در خیار سبب آسیب‌های زیست‌محیطی، به مخاطره انداختن سلامتی انسان، ظهور نژادهای مقاوم، برهم خوردن تعادل میکروبی خاک و از بین رفتن ریزجانداران مفید و هزینه‌های اقتصادی خواهد شد (۲۱). به‌دلیل محدودیت کاربرد روش‌های شیمیایی در کنترل بیماری‌های خاکزاد، دست‌یابی به روش‌های سالم، کارا، مفید و ارزان‌تر یک چالش جدی فراروی پژوهشگران است. از این‌رو روش کنترل بیولوژیک یک راه‌حل بسیار مناسب برای مدیریت بیماری‌های خاکزاد در این محصول است (۳۵ و ۳۶).

گونه‌های *تریکودرما* و *سودوموناس‌های فلورسنت* از مهم‌ترین ریزجانداران فراریشه هستند (۲۷). مؤثرترین و مهم‌ترین جنس قارچی در کنترل بیولوژیک بیماری‌های گیاهی *تریکودرما* است (۲۱) که با مکانیسم‌های متنوعی مانند مایکوپارازیتیسم، رقابت و آنتی‌بیوز بیماری‌های گیاهی را کنترل می‌کند (۷). این جنس قارچی موجب مقاومت القایی و افزایش رشد گیاهان و پالایش زیستی خاک می‌شود (۳۴). این قارچ خاکزی، فرصت‌طلب، غیربیماری‌زا، همزیست با ریشه گیاهان و با قدرت رقابتی زیاد با سایر ریزجانداران است. به‌علت تنوع در متابولیسم جزو متداول‌ترین قارچ‌های قابل کشت است (۲۹). تولید آنزیم‌های مختلف برون‌سلولی، توان اسپورزایی زیاد، تحمل به شوری و سایر ترکیبات موجود در خاک و ریشه از دیگر ویژگی‌های مهم آن است (۱۷). *T. harzianum* از موفق‌ترین عوامل بیوکنترل است که به‌صورت گسترده و تجاری برای مبارزه با برخی بیماری‌های قارچی تولید می‌شود (۳۵). سویه‌های *باسیلوس* با تولید ترکیبات ضدقارچی مانند آنتی‌بیوتیک‌ها، آنزیم‌ها، اتیلن، ترکیبات رشدی، ترکیبات فرّار و القای مقاومت باعث کنترل قارچ‌های بیماری‌زا می‌شوند (۳۱). *سودوموناد‌های فلورسنت* به‌دلیل گسترش وسیع در خاک، قدرت زیاد در کلونیزه کردن ریزوسفر بسیاری از گیاهان و تولید انواع آنتی‌بیوتیک‌ها، سیدروفورها، سیانید هیدروژن و پروتئاز سبب کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی می‌شوند (۳۳).

در سال ۲۰۱۳ علیزاده و همکاران اثر دو عامل بیوکنترل *تریکودرما* و گونه‌ای از *سودوموناس‌های فلورسنت* را بر بیان برخی از ژن‌های دفاعی در خیار در برابر *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis cucumerinum* بررسی کردند (۵). در پژوهشی مشخص شد که کاربرد تلفیقی سه گونه *T. harzianum*، *T. asperellum* و *T. virens* می‌تواند تأثیر زیادی بر کنترل بیماری‌های پوسیدگی‌های فوزاریومی ریشه با عامل *Fusarium solani* داشته باشد و گونه *T. harzianum* از دو گونه دیگر موفق‌تر عمل کرده است (۴). در پژوهش دیگری شرایط بهینه خاک برای فعالیت گونه‌های *تریکودرما* بررسی شده و سویه برتر به‌منظور بررسی تأثیر آن بر بهبود رشد گیاه خیار و نیز ارزیابی پایداری آن در خاک‌های مختلف آزمایش شد. در نهایت نتیجه‌گیری شد که یکی از دلایل جمعیت کم *تریکودرما* در برخی خاک‌ها مناسب‌نبودن شرایط خاک است و در صورت ترمیم جمعیت آن از طریق افزودن سویه‌های موفق قارچ به خاک، می‌تواند در خاک‌های تحت تنش، رشد گیاهان را بهبود بخشد (۲۶). با اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های مختلف دفاعی در خیار پس از تلقیح با باکتری افزایش‌دهنده رشد گیاهان، ایجاد مقاومت القایی در برابر مرگ گیاهچه اثبات شد (۲۴). در پژوهشی اثر بیوکنترلی برخی *سودوموناد‌های فلورسنت* در برابر بوته میری خیار بررسی شد. افزایش در میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز، فنل کل و پلی‌فنل اکسیداز در تیمارهای حاوی باکتری و قارچ به صورت توأم، در مقایسه با تیمار شاهد معنی‌دار بود (۳).

با توجه به اینکه خیار به‌صورت تازه مصرف می‌شود، که در صورت استفاده از سموم شیمیایی دوره کارنس این سموم طی نمی‌شود، بنابراین کاربرد ترکیبات بی‌خطر برای کنترل بیماری های خاکزاد آن یک راهکار مناسب برای کمک به بهبود وضعیت بهداشتی این محصول است (۳۲). بنابراین در این پژوهش امکان کنترل بیولوژیک بیماری های پوسیدگی طوقه، ریشه و ساقه با گونه‌های آنتاگونیست قارچی و باکتریایی در شرایط آزمایشگاه و گلخانه بررسی شد و آنتاگونیست برتر در جهت کاهش وقوع بیماری‌های مولد پوسیدگی ریشه و طوقه خیار در گلخانه تعیین شد.

مواد و روش‌ها

الف) بررسی‌های آزمایشگاهی کنترل بیولوژیک بیمارگر

۱- بررسی قدرت آنتاگونیستی گونه‌های باکتریایی

۱-۱- کشت متقابل جدایه‌های باکتری با قارچ بیمارگر

برای بررسی قدرت بازداری از رشد هر پاتوژن درون تشتک پتری در شرایط آزمایشگاه توسط باکتری‌های آنتاگونیست از روش هاگدورن و همکاران با اندکی تغییرات استفاده شد. ابتدا باکتری‌ها به‌صورت دو نقطه‌ای با فاصله‌ی ۰/۵ سانتی‌متر از لبه تشتک‌های پتری حاوی محیط PDA + NA (به نسبت مساوی) کشت داده شدند. ۴۸ ساعت پس از آن، یک دیسک از کشت جوان قارچ در وسط تشتک‌های پتری قرار داده شد. در پتری شاهد تنها نوک لوپ سترون با نقطه تماس داده شد. سپس، تشتک‌های پتری در دمای ۲۶ درجه سلسیوس به‌مدت چند روز قرار گرفتند. پس از رسیدن حاشیه پرگنه قارچ به فاصله ۰/۵ سانتی متری از لبه پتری شاهد، وجود هاله بازدارندگی از رشد قارچ به‌عنوان واکنش مثبت تلقی شده و برای مقایسه قدرت بازدارندگی باکتری ها، فاصله کلنی باکتری تا کلنی قارچ محاسبه شده و با مقایسه قطر کلنی شاهد توان بازدارندگی باکتری‌ها سنجیده شد (۱۶). درصد بازدارندگی از رشد بیمارگر با فرمول زیر محاسبه شد:

$$IG = [(C - T)/C] \times 100 \quad [1]$$

که در آن IG، درصد بازدارندگی از رشد میسلیوم قارچ بیماری‌زا، C میانگین قطر کلنی قارچ بیمارگر در نبود باکتری و T میانگین قطر کلنی قارچ بیمارگر در کشت متقابل با باکتری است.

۱-۲- بررسی قدرت بازدارندگی از رشد عوامل پاتوژن با متابولیت‌های فرّار باکتری‌ها

این آزمون بر اساس روش Fiddaman and Rossall انجام شد. برای این منظور ۱۰۰ میکرولیتر از کشت تازه باکتری آنتاگونیست روی محیط NA پخش شد و هم‌زمان یک دیسک از کشت میسلیومی جدید بیمارگر روی محیط PDA در تشتک جداگانه کشت شد و بیمارگر در قسمت رویی باکتری‌های آنتاگونیست قرار داده شد. فاصله باز آن دو با نوار پارافیلم بسته شد. در پتری شاهد از آب مقطر سترون به جای باکتری استفاده شده و تشتک‌های پتری در دمای ۲۶ درجه سلسیوس قرار گرفتند. اندازه‌گیری قدرت بازدارندگی متابولیت‌های فرّار باکتری‌ها، با مقایسه میزان رشد نمونه‌ها با میزان رشد شاهد قارچی بدون باکتری سنجیده شد (۱۴) و درصد بازدارندگی از رشد بیمارگر (IG) محاسبه شد.

۲- بررسی قدرت آنتاگونیستی گونه قارچی علیه عوامل پاتوژن

۲-۱- کشت متقابل جدایه‌های تریکودرما با قارچ بیمارگر (Dual culture)

ابتدا در یک طرف تشتک پتری دیسکی ۱ سانتی متری از کلونی پنج روزه قارچ بیمارگر قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت قراردادن پتری در دمای ۲۶ درجه سلسیوس، دیسکی میسلیومی به اندازه ۱ سانتی‌متر از کشت ۲۴ ساعته زیست‌توده آنتاگونیست در طرف مقابل بیمارگر قرار داده شد. پتری‌ها به انکوباتور با دمای ۲۶ سلسیوس منتقل شدند. شعاع کلونی قارچ بیمارگر در هر پتری پس از اینکه قارچ بیماری‌زا در پتری شاهد به نقطه مورد نظر (۱ سانتی‌متری لبه پتری) رسید، اندازه‌گیری شده و درصد بازدارندگی نسبت به شاهد (IG) برای هر یک از پتری‌ها محاسبه شد (۱۱).

۲-۲- آزمون متابولیت‌های فرّار (Volatile metabolites)

برای این منظور از روش Dennis and Webster (1971b) استفاده شد. کشت پنج روزه پاتوژن در معرض کشت ۲۴ ساعته هر یک از زیست‌توده‌های آنتاگونیست به‌صورت هم‌زمان قرار داده شد. به‌صورتی که پتری‌های حاوی آنتاگونیست در زیر قرار گرفتند. دور پتری‌های روی هم قرار گرفته، با پارافیلم مسدود شده تا از خروج متابولیت‌های فرّار جلوگیری شود. سپس به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند (۱۲).

قطر کلونی بیمارگر در تیمارهای مختلف پس از پرشدن پتری شاهد توسط قارچ بیماری‌زا اندازه‌گیری شد و درصد بازدارندگی محاسبه شد.

پس از غربال‌گری در آزمایشگاه گونه برتر آنتاگونیست برای بررسی‌های گلخانه‌ای استفاده شد.

ب) بررسی‌های گلخانه‌ای کنترل بیولوژیک پاتوژن

در این آزمایش از رقم خیار گلخانه‌ای نگین استفاده شد. ابتدا بذور با هیپوکلریت سدیم یک درصد به‌مدت ۳۰ ثانیه ضدعفونی سطحی شده و سپس سه مرتبه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. برای کاشت خیار از خاک مخصوص گلدان و کوکوپیت سترون‌شده در اتو کلاو استفاده شد. پس از کاشت بذور در گلدان‌ها، آنها در گلخانه در دمای ۲۴ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند (۸). برای بررسی میزان کنترل‌کنندگی *Trichoderma harzianum* علیه بیمارگرها در شرایط گلخانه باید مایه تلقیح *تریکودرما* تهیه شده و مایه‌زنی گیاهچه‌های خیار با آن انجام شود. برای مایه‌زنی گیاهچه‌های خیار با *تریکودرما*، از گندم به‌عنوان بستره زاد مایه استفاده شد. ابتدا مقداری بذر گندم آماده شدند به این صورت که به‌مدت ۲۴ ساعت در ظرف آبی خیسانده، سپس ۵۰ گرم گندم خیس‌شده را در هر ارلن ریخته و مقدار کمی آب به آن افزوده، ارلن‌های آماده‌شده را درون اتوکلاو گذاشته تا برای مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی شوند. پس از ضدعفونی، از کشت تازه و بدون آلودگی قارچ‌های بیماریزا، درون هر ظرف ۴-۳ بلوک انداخته می‌شد. ارلن‌ها به‌مدت زمان دو الی سه هفته درون انکوباتور ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری می‌شدند تا کاملاً گندم‌ها توسط ریسه‌های قارچی احاطه شود. سپس ۱۵ گرم از این زیست‌توده به‌ازای هر کیلوگرم با خاک گلدان‌ها مخلوط شدند. سپس برای مایه‌زنی گیاهچه‌های خیار با پاتوژن‌ها ابتدا خاک کنار طوقه و ریشه گیاهچه‌ها در مرحله دو تا سه برگی حقیقی کنار زده شده و مطابق روش بنهامو و بلانجر یک پلاک قارچ به قطر نیم سانتی‌متر از محیط کشت چهار روزه قارچ بیماری‌زا در تماس مستقیم با طوقه و ریشه گیاه قرار داده شد. در گلدان‌های شاهد نیز به همین روش یک پلاک محیط کشت خالص بدون قارچ به قطر ۰/۵ سانتی‌متر در تماس مستقیم با طوقه و ریشه گیاهان قرار داده شد (۸).

ج) ارزیابی شدت بیماری

در روزهای پس از مایه‌زنی، با بازدیدهای مرتب، علائم مشاهده شده بررسی و یادداشت‌برداری شدند. پس از آلوده‌سازی و ظهور کامل علایم شاخص شدت بیماری، وزن تازه و خشک اندام هوایی و ریشه، طول اندام هوایی و ریشه در تیمارهای مختلف ارزیابی شد. شاخص شدت بیماری بر علیه قارچ پوسیدگی فوزاریومی ساقه و ریشه بر اساس امتیازدهی صفر تا چهار (۳۸)، برای بیماری مرگ پیتیومی گیاهچه از روش ژانگ و همکاران بر اساس نمره‌دهی یک تا ۴ بر اساس علائم پوسیدگی (۴۰) و شاخص شدت بیماری برای بوته میری جالیز بر اساس مقیاس صفر تا پنج، ارزیابی شد (۲۲). برای هر کدام از این ارزش‌ها تعریف ویژه‌ای در هر بیماری وجود دارد. شاخص بیماری (DI = disease index) برحسب درصد با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$DI\% = \sum_{i=1}^{n} \frac{\text{(مقیاس آلودگی} \times \text{گیاهچه‌های تیمار)} \times 100}{\text{تعداد کل گیاهچه‌ها} \times \text{بالاترین مقیاس آلودگی}} \quad [۲]$$

n_i، تعداد گیاهچه‌های آلوده مورد ارزیابی در نمره‌دهی i است. می توان با کم کردن آن از عدد ۱۰۰، درصد کنترل بیماری را محاسبه کرد (۲۵).

جدول ۱. میانگین شاخص‌های آنتاگونیستی در شرایط آزمایشگاه (درصد بازدارندگی از رشد قارچ‌های بیماری‌زا)

شاخص آنتاگونیستی (درصد بازدارندگی از رشد قارچ بیماری‌زا)		
تیمارها	اثر متقابل	اثر ترکیبات فرّار
F. o. f.sp. radicis-cucumerinu+T.harzianum	۸۶/۶۲	۶۴/۶۳
F. o. f.sp. radicis-cucumerinu+T.virens	۸۲/۴	۶۳/۱۱
P. aphanidermatum+T.harzianum	۵۱/۱۶	۲۳/۷۲
P. aphanidermatum+T.virens	۴۹/۶۲	۲۲/۳۲
Ph.melonis+T.harzianum	۵۷	۳۰/۰۸
Ph.melonis+T.virens	۳۵/۷۱	۳۳/۶۱

د) تجزیه و تحلیل داده‌ها

این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار و با ۸ تیمار زیر انجام شد:

T. harzianum-

- شاهد سالم

(۱): *control*. (۲): *Fusarium oxysporum f.sp. radicis-cucumerinum* . (۳): *Pythium aphanidermatum* (۴): *Phytophthora melonis*. (۵): *T. harzianum* (۶): *Fusarium oxysporum f.sp. radicis-cucumerinum +T.harzianum*. (۷): *Pythium aphanidermatum+T. harzianum* (۸): *Phytophthora melonis +T.harzianum*.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج

الف) قدرت بازدارندگی از رشد میسلیومی بیمارگرها درون تشتک پتری توسط آنتاگونیست‌ها

هر دو سویه از قارچ‌های *T. harzianum* و *T. virens* دارای آثار بازدارنده روی قارچ‌های بیماری‌زا درون تشتک پتری بودند. باکتری‌های *P. fluorescens* و *B. subtilis* درون تشتک پتری حاوی محیط کشت PDA و NA توانستند هر سه قارچ بیماری‌زا را کنترل کنند و هاله بازدارندگی در برابر قارچ‌های پاتوژن ایجاد شد. وجود هاله بازدارندگی نشان‌دهنده تولید متابولیت‌های بازدارنده از سوی باکتری است.

ب) تأثیر ترکیبات فرّار ضدقارچی آنتاگونیست‌ها بر بیمارگرها

بررسی‌ها نشان داد که قارچ‌های آنتاگونیست و باکتری‌های آنتاگونیست توانستند ترکیبات فرّار ضدقارچی را تولید کنند و از رشد میسلیومی قارچ‌های بیماری‌زا جلوگیری کنند. از جمله ترکیبات فرّاری که توسط باکتری‌ها تولید می‌شود می‌توان سیانید هیدروژن را نام برد که تولید آن توسط جدایه‌های *سودوموناس فلورسنس* به اثبات رسیده است (۹). تولید ترکیبات فرّار توسط جدایه‌های *P. fluorescens* یکی از مکانیسم‌های کنترل بیماری‌های قارچی است (۲۰). در جدول (۱) درصد بازدارندگی از رشد قارچ‌های پاتوژن در کشت متقابل و اثر ترکیبات فرّار با قارچ‌های آنتاگونیست نشان داده شده است.

در جدول (۲) درصد بازدارندگی از رشد قارچ‌های پاتوژن در کشت متقابل و اثر ترکیبات فرّار با باکتری‌های آنتاگونیست نشان داده شده است.

ج) تأثیر *Trichodema harzianum* بر شدت بیماری در نمونه‌های خیار آلوده شده به پاتوژن‌های مورد نظر در شرایط گلخانه

میزان کنترل‌کنندگی *T. harzianum* علیه *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum*، *Pythium aphanidermatum* و *Phytophthora melonis* روی گیاه خیار

جدول ۲. میانگین شاخص‌های آنتاگونیستی در شرایط آزمایشگاه (درصد بازدارندگی از رشد قارچ‌های بیماری‌زا)

شاخص آنتاگونیستی (درصد بازدارندگی از رشد قارچ بیماریزا)			
تیمارها	اثر متقابل	شعاع هاله بازدارندگی (میلی‌متر)	اثر ترکیبات فرّار
F. o. f.sp. radicis-cucumerinu+P. fluorescense	۳۳/۳۳	۱۳	۳۷/۲۶
F. o. f.sp. radicis-cucumerinu+B. subtilis	۴۰	۱۶	۳۹/۶۶
P. aphanidermatum+P. fluorescense	۳۷/۵	۱۵	۵۰/۰۹
P. aphanidermatum+B. subtilis	۴۵/۸۳	۱۸	۳۴/۴۸
Ph. melonis+P. fluorescense	۳۰	۱۲	۶۵/۴۲
Ph. melonis+B. subtilis	۳۰/۸۳	۱۲	۴۷

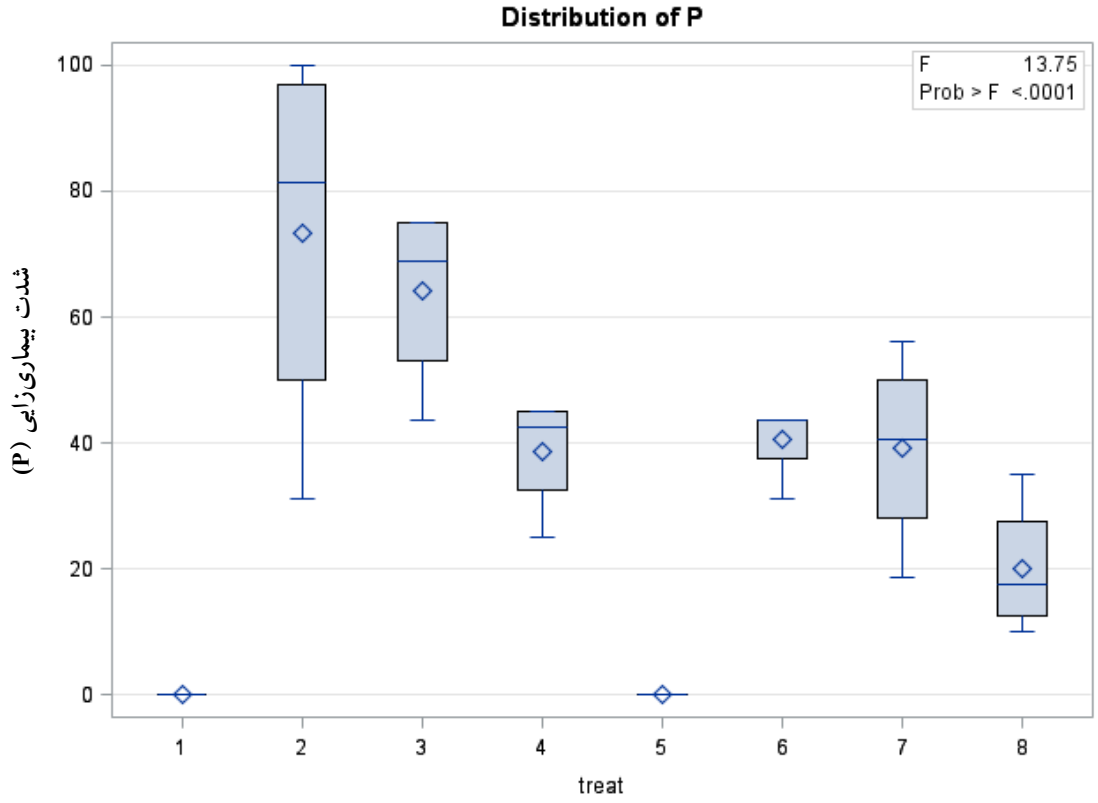
جدول ۳. درصد شاخص شدت بیماری‌زایی در تیمارهای مختلف

شاخص بیوکنترلی در گلخانه	
تیمارها	شدت بیماری (DI، درصد)
T. harzianum	۰ c
contorol	۰ c
F. o. f.sp. radicis-cucumerinum	۷۳/۴۴a
F. o. f.sp. radicis-cucumerinum+T. harzianum	۴۰/۶۳b
P. aphanidermatum	۶۴/۰۶a
P. aphanidermatum+T. harzianum	۳۹/۰۶b
Ph. melonis	۳۸/۷۵b
Ph. melonis+T. harzianum	۲۰ bc

بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن حروف مشترک تفاوت معنی‌دار در ($P< ۰/۰۵$) ندارند.

در شرایط گلخانه در جدول (۳) دیده می‌شود. این عامل آنتاگونیست به‌ترتیب ۳۲/۸۱، ۲۵ و ۱۸/۷۵ درصد سبب کنترل بیماری پوسیدگی فوزاریومی خیار، مرگ پیتیومی گیاهچه و بوته میری خیار شد. با بررسی شدت بیماری در هر کدام از تیمارهای مورد نظر مشاهده می‌شود رقم نگین به بیماری پوسیدگی فوزاریومی طوقه و ریشه حساس است و بیش‌ترین درصد شدت بیماری‌زایی توسط این قارچ روی این رقم مشاهده شد، در مقابل *Ph.melonis* کم‌ترین درصد شدت بیماری‌زایی را روی این رقم داشته است (جدول ۳). با بررسی شدت آلودگی مشخص شد که سویه *تریکودرما* توانست در مقایسه با تیمارهایی که تنها آلوده به پاتوژن‌ها بودند تفاوت معنی‌داری در کاهش شدت آلودگی نشان دهد.

توزیع متغیر وابسته شدت بیماری‌زایی بر اساس تیمارهای مورد نظر بررسی شد (شکل ۱).



شکل ۱. توزیع متغیر وابسته شدت بیماری‌زایی.

treat: (۱) *control*، (۲): *F. o. f.sp. radicis-cucumerinum*، (۳): *P. aphanidermatum*، (۴): *Ph. melonis*، (۵): *T. harzianum*، (۶): *F. o. f.sp. radicis-cucumerinum+T.harzianum*، (۷): *P. aphanidermatum+T. harzianum* و (۸): *Ph.melonis+T.harzianum*

د) تأثیر *Trichodema harzianum* بر فاکتورهای رشد در نمونه‌های خیار آلوده‌شده به پاتوژن‌های مورد نظر در شرایط گلخانه

بررسی تأثیر سویه قارچ مورد نظر بر میزان کنترل بیمارگرها و افزایش رشد گیاه، پس از گذشت سه هفته از مایه‌زنی بیمارگر، انجام شد. فاکتور های مورد ارزیابی شامل درصد بیماری‌زایی، طول ریشه، طول اندام هوایی، وزن تازه و خشک اندام هوایی و ریشه گیاه بودند. گیاهانی که تنها با قارچ *T. harzianum* تیمار شده بودند افزایش رشد زیادی در مقایسه با شاهد سالم نشان دادند. گونه های جنس *تریکودرما* از عوامل مهم بهبود دهنده رشد گیاهان هستند و فاکتورهای رشدی گیاه نیز در مقایسه با شاهد تفاوت معنی داری نشان داد. همچنین، گیاهانی که هم با *تریکودرما* و هم با بیمارگرها تیمار شده بودند، نسبت به گیاهانی که تنها با بیمارگرها تیمار شده بودند افزایش رشد نشان دادند. نتایج نشان داد که استفاده از این سویه هم در کنترل پاتوژن‌های مورد نظر می‌تواند مؤثر واقع شود و هم در افزایش رشد گیاه خیار می‌تواند به‌عنوان یک محرک رشدی باشد (جدول ۴).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به‌دست آمده از اندازه‌گیری صفات و فراسنجه‌های مورد نظر در تیمارها نشان می‌دهد که سوش *T. harzianum* زمانی که برای کنترل بیماری‌های خاکزاد استفاده می‌شود، باعث افزایش شاخص‌های عملکردی می‌شوند اما در اکثر صفات این تفاوت معنی‌دار نیست. تنها میانگین صفت ارتفاع گیاهچه و وزن خشک ریشه در تیمار *Ph. melonis+T. harzianum* دارای اختلاف معنی‌دار با تیمار *Ph. melonis* در سطح ۵ درصد هستند. همه صفات

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر جدایه *T.harzianum* روی شاخص‌های رشدی اندازه گیری شده در تیمارهای مختلف گیاهان خیار

شاخص‌های عملکردی در گلخانه					
تیمار	ارتفاع گیاهچه (سانتی‌متر)	وزن تازه اندام هوایی (گرم در بوته)	وزن خشک اندام هوایی (گرم در بوته)	وزن تازه ریشه (گرم در بوته)	وزن خشک ریشه (گرم در بوته)
۱	۳۳/۵۹ a	۳/۷۷ a	۰/۴۶ a	۱/۰۰ a	۰/۱۲ a
۲	۲۶/۹۱ b	۲/۸۷ b	۰/۳۸ a	۰/۶۴ b	۰/۰۷ b
۳	۱۴/۰۹ d	۰/۶۳ e	۰/۰۶ d	۰/۱۴ c	۰/۰۲ d
۴	۱۶/۳۱ d	۱/۱۷ e	۰/۰۹ cd	۰/۲۰ c	۰/۰۳ cd
۵	۱۴/۳۱ d	۰/۸۸ e	۰/۱۶ cbd	۰/۱۷ c	۰/۰۳ cd
۶	۱۴/۳۴ d	۱/۲۸ de	۰/۱۷ cb	۰/۲۰ c	۰/۰۳ cd
۷	۲۱/۱۹ c	۱/۹۸ cd	۰/۲۳ b	۰/۵۱ b	۰/۰۴ c
۸	۲۴/۹۴ b	۲/۶۷ bc	۰/۲۳ b	۰/۵۸ b	۰/۰۷ B

(۱): *T. harzianum* ، (۲): *Contorol*، (۳): *F. o. f.sp. radicis-cucumerinum*،

(۴): *F. o. f.sp. radiciscucumerinum+T.harzianum* ،(۵): *P. aphanidermatum*

(۶): *P. aphanidermatum+T. harzianum* ،(۷): *Ph. Melonis* و (۸): *Ph.melonis+T.harzianum*

بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن، در هر ستون حروف مشترک اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ($P < ۰/۰۵$) ندارند.

اندازه‌گیری‌شده مربوط به تیمار *T. harzianum* بیش‌ترین میزان افزایش نسبت به شاهد و سایر تیمارها را داشتند و تنها در مورد صفت وزن خشک اندام هوایی تفاوت معنی‌دار در بین گیاهان شاهد سالم با گیاهانی که با *تریکودرما* تلقیح شده بودند مشاهده نشد.

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که فاکتورهای مورد بررسی دارای اختلاف معنی‌داری در بین تمام تیمارهای مورد آزمایش هستند. تیمار مربوط به *T. harzianum* بیش‌ترین تأثیر را در توسعه فاکتورهای رشدی گیاهچه خیار داشته است (جدول ۵). پتانسیل بیش‌تر گونه‌ها و سویه‌های *تریکودرما* برای توسعه رشد در گیاهان گزارش شده است. این قارچ باعث توسعه ریشه‌های ثانوی، توسعه سیستم ریشه، افزایش وزن تازه گیاهچه، منطقه برگی و عملکرد می‌شود. *تریکودرما* همانند قارچ‌های میکوریزی، ریشه های گیاه را برای حفاظت و افزایش رشد کلونیزه می کند و طی این فرایند، نیازمند اتصال، شناسایی و نفوذ به ریشه های گیاه و همچنین، تحمل متابولیت های سمّی حاصل از گیاه به واسطه سیستم ABC ترانسپورتر در پاسخ به نفوذ است (۶). گونه‌های مختلف قارچ *تریکودرما* از مکانیسم های متنوعی مانند حلالیت برخی مواد غذایی، کاهش تولید اتیلن، تولید اکسین و رقابت موفق برای افزایش فاکتورهای رشدی گیاه بهره می‌برند (۱۸).

هـ) ضریب همبستگی آثار تیمارها بر وزن تازه ریشه با شاخص‌های پوسیدگی ریشه خیار

همبستگی بین وزن تازه ریشه و شدت بیماری‌زایی وجود دارد. گیاهانی با شدت بیماری زیاد دارای میزان وزن کم‌تری هستند. ضریب همبستگی شدت بیماری با وزن تازه ریشه منفی بود (r برابر ۰/۷۶۶) بدین مفهوم که با افزایش شدت بیماری فاکتور وزن تازه ریشه کاهش یافت.

بحث

با توجه به اهمیت و گسترش بیماری‌های خاکزاد در خیار و از

جدول ۵. تجزیه واریانس اثر جدایه *T.harzianum* بر شاخص‌های بیماری‌زایی و عملکردی در کنترل بیماری‌های خاکزاد خیار

	منبع تغییرات (S.O.V)	تیمارهای آزمایشی	خطای آزمایش	کل	ضریب تغییرات	حداقل تفاوت معنی‌دار	تیمارهای آزمایشی
میانگین مربعات (MS)	درجه آزادی (df)	۷	۲۴	۳۱			۷
	درصد (شدت) بیماریزایی	۲۸۸۹/۸۴**	۲۱۰/۱۱		۴۲/۰۲	۲۱/۱۵	۲۸۸۹/۸۴**
	طول گیاهچه	۲۰۹/۷۵**	۵/۲		۱۱/۰۰	۳/۳۳	۲۰۹/۷۵**
	وزن تازه اندام هوایی	۴/۹۰**	۰/۲۴		۲۵/۷۰	۰/۷۱	۴/۹۰**
	وزن تازه ریشه	۰/۳۷**	۰/۰۰۹		۲۲/۰۱	۰/۱۴	۰/۳۷**
	وزن خشک اندام هوایی	۰/۰۷**	۰/۰۰۴		۲۹/۵۰	۰/۰۹۷	۰/۰۷**
	وزن خشک ریشه	۰/۰۰۵**	۰/۰۰۰۲		۲۵/۲۰۰	۰/۰۱۹	۰/۰۰۵**

** اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد

سوی دیگر استفاده از عوامل بیوکنترل به‌عنوان شیوه مفید و کارا در کنترل بیماری‌های خاکزاد، میزان کنترل برخی از این عوامل با آنتاگونیست‌های قارچی و باکتریایی بررسی شد. هدف از انجام این پژوهش نیز یافتن راهی مناسب و کارا برای کاربرد این استراتژی بود. با وجود اینکه در مواردی شاخص‌های آزمایشگاهی مانند هاله بازدارندگی به‌عنوان شاخص سویه‌های با قابلیت بیوکنترلی بیش‌تر استفاده می‌شوند، ولی باید پذیرفت که رفتار سویه‌ها روی محیط‌های کشت در شرایط آزمایشگاهی با شرایط گلخانه‌ای متفاوت است. به‌طور کلی شرایط محیط اطراف ریشه بسیار متفاوت‌تر از آزمایشگاه است و ترشحات ریشه گیاه نقش مهمی را در واکنش میزبان و بیمارگر ایفا می‌کند. از این‌رو تنها نمی‌توان به اطلاعات حاصل از کارهای آزمایشگاهی اکتفا کرد. در این پژوهش نه تنها شاخص‌های آنتاگونیستی در آزمایشگاه بلکه شاخص شدت بیماری و شاخص‌های عملکردی در گلخانه نیز بررسی شد. در آزمون‌های آنتاگونیستی باکتری در مقابل قارچ‌های بیماریزا از محیط کشت PDA و NA استفاده شد که محیط‌های مرسومی برای بررسی‌های آزمایشگاهی هستند. در محیط آزمایشگاه مکانیسم‌های مهم بیوکنترلی از جمله کلنیزاسیون، رقابت و مقاومت القایی درگیر نخواهند بود. بنابراین، نمی‌توان انتظار داشت یک باکتری موفق در محیط آزمایشگاه در محیط گلخانه نیز موفق باشد. آزمون هاله بازدارندگی تنها یک آزمون اولیه است و برای غربال‌گیری اولیه انجام می‌شود و شاخص‌های آزمایش هاله بازدارندگی تنها می‌توانند اطلاعاتی کلی درباره توان بالقوه آنتاگونیست‌ها در شرایط تعریف‌شده‌ای به ما بدهند (۱۵) و نمی‌توانند معیار مطمئنی برای ارزیابی قابلیت بیوکنترلی آنها در شرایط طبیعی باشند. در این‌گونه موارد بهتر است کارایی هر سویه در شرایط مزرعه و حتی در شرایط مزارع مختلف ارزیابی شود تا بتوان با اطمینان بیش‌تری نسبت به کاربرد آنها اقدام کرد.

در این پژوهش از باکتری‌های پروبیوتیک گیاهی *B. subtilis* و *P. fluorescens* UTPF68 استفاده شد. *P. fluorescens* UTPF68 به‌علت تولید هورمون اکسین، سالیسیلیک اسید، سیدروفور، پروتئاز و عدم تولید آنزیم‌های زیان‌آور برای گیاه مانند سلولاز و پکتیناز باعث تحریک رشد گیاه و کنترل عوامل بیماری‌زای گیاهی می‌شود (۲). در این پژوهش، نتایج حاصل از آزمون هاله بازدارندگی و میزان بازدارندگی در اثر مواد فرّار توسط این باکتری در مقابل عوامل بیماری‌زای خاکزاد در شرایط آزمایشگاهی تأییدکننده این اثر بود (۳). سویه *B. subtilis* با حداکثر ۴۵/۸ درصد اثر بازدارندگی

در اثر مقابل و حداکثر ۴۷ درصد در اثر مواد فرّار دارای قدرت بازدارندگی در مقابل قارچ‌های مورد بررسی بود، این سویه *B.subtilis* با تولید ترکیبات ضدقارچی مانند آنتی بیوتیک‌ها، آنزیم‌ها، اتیلن و همچنین ترکیبات رشدی و ترکیبات فرّار باعث کنترل بیماری‌های گیاهی می‌شوند. همچنین سویه‌های این جنس باکتریایی با القا مقاومت در گیاه باعث افزایش توان گیاه در مقابله با عوامل بیماری‌زا می‌شوند (۳۱).

گونه *T. harzianum* با تولید آنزیم‌های هیدرولیتیک، آنتی‌بیوتیک‌ها و متابولیت‌های محلول در آب مانند پپتایبول سبب کنترل عوامل بیماری‌زا می‌شوند. این قارچ بر اساس نوع دیواره سلولی قارچ بیماری‌زا آنزیم‌های متفاوتی را تولید می‌کند (۲۸). این قارچ جزء عوامل بیوکنترلی است که از مکانیزم القای مقاومت در گیاه در برابر عامل بیماری‌زا بهره می‌گیرد. مهم‌ترین برتری این روش در این است که برخلاف مکانیزم‌های دیگر که تنها در حضور آنتاگونیست فعال امکان‌پذیرند، در این نوع حفاظت هنگامی که در گیاه میزبان القا شده، جمعیت عامل آنتاگونیست در خاک به آستانه خاصی رسید، مکانیزم‌های مقاومت می توانند حتی پس از کاهش جمعیت آنتاگونیست تا مدت طولانی دوام داشته باشد (۳۹). قارچ *تریکودرما* شاخص‌های عملکردی در گیاهانی که تنها با این قارچ تیمار شده بودند را افزایش داد. بر اساس پژوهش‌های پیشین مشاهده شده بود که این قارچ باعث افزایش تحمل گیاه در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده می‌شود و با افزایش شاخص‌های عملکردی خطرهای ناشی از تنش‌ها را کاهش می‌دهد (۱۹).

با توجه به مشکلاتی مانند شوری، که در خاک های کشور وجود دارد، انجام پژوهش‌هایی درباره استفاده از مهارکننده‌های زیستی ضروری است که علاوه بر کنترل مؤثر بیمارگرهای خاکزاد می‌تواند به کاهش آثار این تنش‌ها و بهبود رشد گیاهان کمک کند. در این زمینه، ارزیابی کارایی قارچ *تریکودرما* در افزایش رشد گیاه با عواملی مانند نوع گیاه، جدایه *تریکودرما*، روش تهیه و به‌کارگیری زادمایه، غلظت زادمایه و نوع خاک مرتبط است (۲۳ و ۳۰). با توجه به شرایط نامساعد در بیش‌تر خاک‌های کشور مانند شوری، قلیایی بودن، کمبود عناصر و فقر تغذیه‌ای خاک استفاده از عوامل بیوکنترل برای کنترل بیماری‌های گیاهی و بهبود رشد گیاهان و کاهش تنش‌های محیطی ضروری به‌نظر می‌رسد. همان‌طور که از نتایج این پژوهش حاصل شد، گونه *T. harzianum* نه تنها سبب کنترل بیماری‌های خاکزاد در خیار شد بلکه باعث بهبود شاخص‌های عملکردی هم در گیاهان بیمار شد. همچنین به‌طور ویژه شاخص‌های رشدی در گیاهانی که تنها با این قارچ تیمار شده بودند را افزایش داد. البته برای رسیدن به نتیجه بهتر به‌دلیل کاهش جمعیت این قارچ در طول زمان، نیاز به افزودن مایه تلقیح این قارچ به خاک در طی دوره‌های مختلف است (۲۶).

نتیجه‌گیری

در پایان می‌توان گفت که این جدایه *T. harzianum* قارچ *تریکودرما* قابلیت‌های مؤثر خود را در بیوکنترل برخی از بیماری‌های خاکزاد خیار نشان داد. همان‌طور که در پژوهش‌های پیشین نیز این قابلیت درباره بیماری‌های گیاهی گزارش شده بود. این پژوهش ملاک اصلی در سنجش قدرت بیوکنترلی این جدایه و کنترل‌کنندگی آن در برابر این سه بیماری بود. بنابراین می‌توان محیط کشت مناسب و اقتصادی برای قارچ مذکور تعریف کرد و از این عامل در سطح وسیع برای کنترل بیماری‌های خاکزاد در خیار استفاده کرد. در کارهای تکمیلی دیگر با بررسی سایر جوانب قدرت آنتاگونیستی سایر جدایه‌های آنتاگونیست در برابر بیماری‌های خاکزاد خیار می‌توان تعدادی از این جدایه‌ها را برای کاربرد وسیع و اقتصادی به تولید انبوه رساند. پژوهش‌های بیش‌تری درباره مکانیزم‌های کنترل بیولوژیک، شناسایی متابولیت‌های آنتاگونیست‌ها و در سطح مولکولی شناسایی ژن‌های کدکننده ترشح آنزیم‌ها و سایر متابولیت‌ها نیز می‌تواند گام‌های مهمی به‌سوی کنترل بهتر بیماری باشد.

منابع مورد استفاده

1. Ahmadi, K., H.R. Ebadzadeh, F. Hatami, R. Hosseinpour and H. Abdeshah. 2018. Iran Agriculture Statistics, volume 3. 1nd ed. Agriculture ministry, Tehran. (in Farsi)
2. Ahmadzadeh, M. and S.Ghasemi. 2012. Introduction of *Pseudomonas fluorescens* as a new biocontrol agent in Iran. Biol. Control. Pests. Plant Dis. 1: 49–60. (in Farsi)
3. Akbari-Moghadam, E., R. Saberi-Riseh, P. Khodaygan and H. Alaei. 2015. Evaluate the control ability of *Pseudomonas fluorescens* strains on cucumber root rot disease. Biol. Control. Pests. Plant Dis. 4(2): 77–88. (in Farsi)
4. Akrami, M. 2015. Effects of *Trichoderma* spp. in Bio-controlling *Fusarium solani* and *F. oxysporum* of cucumber (*Cucumis sativus*). J. Appl. Environ. Biol. Sci. 4(3): 241–245.
5. Alizadeh, H., K. Behboudi, M. Ahmadzadeh, M. Javan-Nikkhah, C. Zamioudis, M.J. Pieterse and P. Bakker. 2013. Induced systemic resistance in cucumber and *Arabidopsis thaliana* by the combination of *Trichoderma harzianum* Tr6 and *Pseudomonas sp*. Ps14. Biol. Control. 65: 14–23.
6. Bae, H. 2011. *Trichoderma* species as abiotic and biotic stress quenchers in plants. Res. J. Biotec. 6(3):73–79.
7. Belanger, R.R., N. Dufour, J. Caron and N. Benhamou. 2010. Chronological events associated with the antagonistic properties of *Trichoderma harzianum* against *Botrytis cinerea*: Indirect evidence for sequential role of antibiosis and parasitism. Biocontrol Sci and Technol. 5: 41–54.
8. Benhamou, N. and R.R. Blanger. 1998. Benzothiadiazole-mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato. Plant Physiol. 118: 1203–1212.
9. Castric, K.F. and P. Castric. 1983. Method for rapid detection of cyanogenic bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 45: 701–702.
10. Chehri, K., S. Abbasi, K.R.N. Reddy and B. Salleh. 2010. Occurrence and pathogenicity of various pathogenic fungi on cucurbits from Kermanshah Province, Iran. Afr. J. Microbiol. Res. 4 (12): 1215–1223.
11. Dennis, C. and J. Webster. 1971a. Antagonism properties of species groups of *Trichoderma*, III. Hyphal interaction. Trans. Br. Mycol. Soc. 57: 363–369.
12. Dennis, C. and J. Webster. 1971b. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* production of volatile antibiotics. Trans. Br. Mycol. Soc. 57: 41–48.
13. Etebarian, H.R. 2012. Diseases of vegetable and cucurbit and their control. University of Tehran, Tehran. 600 pp. (in Farsi)
14. Fiddaman, P.J. and K. Rossall. 1994. Effect of substrate on the production of antifungal volatiles from *Bacillus subtilis*. J. Appl. Bacteriol. 79: 395–405.
15. Fravel, D.R. 1998. Role of antibiosis in the biocontrol of plant disease. Ann. Rev. Phythopathol. 26: 75–91.
16. Hagedorn, C., W.D. Gould and T.R. Bardinelli. 1998. Rhizobacteria of cotton and their repression of seedling disease pathogens. Appl. Environ. Microbiol. 55: 2793–2797.
17. Harman, G.E., C.R. Howell, A. Viterbo, I. Chet and M. Lorito. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nat. Rev. Microbiol. 2: 43–56.
18. Harman, G.E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. Phytopathol. 96: 190–194.
19. Harman, G.E. 2012. *Trichoderma* spp. Including *T. harzianum*, *T. viride*, *T. knoningii*, *T. hamatum* and other spp. Deuteromycetes, Moniliales (Asexual Classification System). http://www.biocontrol.entomology.cornell.edu/ pathogens / trichoderma.html.
20. Keel, C. and G. Defago. 1997. Interaction between beneficial soil bacteria and root pathogens: mechanism and ecological impact In: Gange, A.C. and Brown, V. K. (eds.) Multitrophic Interaction in Terrestrial System. pp. 27□46. Blackwell Scientific publishers. London, U.K.
21. Khan, Sh., NB. Bagwan, MA. Iqbal and RR. Tamboli. 2011. Mass Multiolication and shelf life in liquid fermentation final product of *Trichoderma viride* in different formulations. Adv. Bio Res. 2(1): 178–182.
22. Kim, E. and B.K. Hwang. 1992. Virulence to Korean pepper cultivars of isolates of *Phytophthora capsici* from different geographic areas. Plant. Dis. 76: 486–489.
23. Kleifeld, O. and I. Chet. 1992. *Trichoderma harzianum* interaction with plants and effects on growth response. Plant Soil. 144: 267–272.
24. Liang, J.G., R.X. Tao, Z. Hao, L.P. Wang and X. Zhang. 2011. Induction of resistance in cucumber against seedling damping-off by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) *Bacillus megaterium* strain L8. Afr. J. Biotechnol. 10(36): 6920–6927.
25. Liu, L., J.W. Kloepper and S. Tuzun. 1995. Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. Phytopathol. 85: 695–698.
26. Mazlumi Lyli1, A., H. Alizadeh, N. Broumand and Z. Azami Sardooei. 2015. Evaluation of *Trichoderma* stability in different soils and its effects on the growth performance of cucumber. Biol. Control Pests Plant Dis. 4(2): 99–108. (in Farsi)

27. Mendes, R., M. Kruijt, I. De Bruijn, E. Dekkers, M. Van Der Voort, J.H.M. Schneider, Y.M. Piceno, T.Z. Desantis, G.L Andersen, P.A.H.M. Bakker and J.M. Raaijmakers. 2011. Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. Science. 332: 1097–1100.
28. Monga, D. 2001. Effect of carbon and nitrogen sources on spore germination, biomass production and antifungal metabolites by species of *Trichoderma* and *Gliocladium*. Indian Phytopathol. 4: 435–437.
29. Morgan, L. 2011. *Trichoderma* in Hydroponic Systems [Online]. Available at: http://urbangardenmagazine.com /2011/02/trichoderma-in-hydroponic-systems/ [Accessed: 6 March 2013].
30. Qusley, M.A., J.M. Lynch and J.M. Whipps. 1994. Potential of *Trichoderma* spp. as consistent plant growth stimulators. Biol. Fertil. Soils. 17: 85–90.
31. Safari Asl, F., H. Rouhani, M. Falahati Rastegar and V. Jahanbakhsh. 2011. Study of antagonistic mechanisms of *Bacillus* spp. in biocontrol of cucumber root and foot rot caused by *Pythium ultimum* and *P. aphanidermatum*. J. Plant Prot. 24(4): 445–456. (in Farsi)
32. Safdarpoor, F., Gh. Khodakaramian and M.J. Solimani. 2014. Systemic resistance induction against cucumber marginal leaf blight disease by sodium silicate application. J. Plant Prot. 36(1): 29–38. (in Farsi)
33. Salman, M., R. Abuamsha and S. Barghouthi. 2013. Interaction of fluorescent pseudomonads with *Pythium Ultimum* and *Rhizoctonia Solani* in cucumber roots. Am. J. Exp. Agric. 3(1): 240–251.
34. Singh, V. and B.B. Jodhi. 2007. Mass multiplication of *Trichoderma harzianum* on sugarcane press mud. Indian Phytopathol. 60: 530–531.
35. Subash, N., M. Meenakshisundaram, C. Sasikumar and N. Unnamalia. 2014. Mass cultivation of *Trichoderma Harzianum* using agricultural waste as a substrate for the management of damping off disease and growth promoting in chili plants (*Capsicum annuum* L.). Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 6(5): 188–192.
36. Subramanian, J. and k. Satyan. 2014. Isolation and selection of fluorescent pseudomonads based on multiple plant growth promotion traits and siderotyping. Chi. J. Agric. Res. 74(3): 319–325.
37. Tolaei, M. 2013. The Compendium of Cucumber and Tomatto Soil Culture in Greenhouse Condition. Ministry of Jihad-Keshavarzi Press, Tehran. (in Farsi)
38. Vakalounakis, D.J. 1996. Root and stem rot of cucumber caused by *Fusarium oxysporum* f.sp.*radicis cucumerinum*. Plant. Dis. 80: 313–316.
39. Van Loon, L.C. and E.A. Van Strien. 1999. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. Physiol. Mol. Plant Pathol. 55: 85–97.
40. Zang, W., W.A. Dick and H.A.J. Hoitink. 1996. Compost-induced systemic acquired resistance in cucumber to pythium root rot and anthracnose. Phytopathol. 86: 1066–1070.

Influence of Fungal and Bacterial Antagonists on Some Causal Agents of Cucumber Root and Crown Rots

S. Reisi Dehkordi[1], N. Panjehkeh[1*], A.H. Taheri[2] and S.K. Sabbagh[3]

(Received: 21 April 2020; Accepted: 30 October 2020)

Abstract

Cucumber root and crown rots are one of the main factors limiting cucumber production. Due to the soil borne nature of causal agents, their chemical control is not only ineffective, but also destroys the environment. Biological control strategies are one of the ways to combat these diseases. This research was conducted to study the biological control of cucumber soilborn diseases. The biocontrol influences of *Trichoderma harzianum*, *T. virens*, *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* against cucumber root and crown rots caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum*, *Pythium aphanidermatum* and *Phytophthora melonis* were investigated in the laboratory. *T. harzianum*, which had the highest rate of the inhibitory growth in the laboratory, was used for the greenhouse studies. The disease severity and yield components of greenhouse cucumber Negin variety were evaluated in different treatments in a completely randomized design with four replicates using the SAS software. Highest percentage of inhibition in dual culture with 45.8% was observed by *B. subtilis* versus *P. aphanidermatum.* The results revealed that *T. harzianum* had the highest and lowest disease controls (32.8 and 18.8 percent) on *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* and *P. melonis*, respectively. The treatment related to *Trichoderma*-inspired healthy plants had the greatest effect on the increase of the yield components in cucumber, while the infected plants with *F. oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum* had the lowest yield. The disease severity index and root fresh weight showed a high correlation in different treatments. Therefore, fungal and bacterial antagonists were successful in controlling the cucumber root diseases.

Keywords: Root and crown rots, Biological control, *Trichoderma harzianum*, Negin variety.

1. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol
2. Department of Plant Protection, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan
3. Department of Biology, University of Yazd
* Corresponding Author, Email: naserpanjeke@gmail.com