



Evaluation of the combination of *Bacillus velezensis* JPS19 and *Bacillus thuringiensis* E13 in the control of *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* in tomato

Sara Salari Ganjabadi¹ , Keivan Behboudi² 

1. Department of Phytomedicine, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: sara.salari@ut.ac.ir
2. Corresponding Author, Department of Phytomedicine, Faculty of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: behbodi@ut.ac.ir

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Article	Tomato root and crown rot, caused by the fungus <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> (UJ152) (FORL), is a significant soil-borne disease and a major factor causing damage to tomato production worldwide. The use of soil-borne antagonists to enhance yield and crop protection is a promising approach in modern sustainable agricultural systems. The controlling effects of a bacterial combination on the mycelial growth of the pathogen were investigated by culture in the laboratory. Two strains, <i>Bacillus thuringiensis</i> E13 and <i>B. velezensis</i> JPS19, were able to form an inhibition halo against the mycelial growth of the FORL (UJ152) pathogen. In this study, various treatments, including the inoculation of the two bacterial strains (<i>B. thuringiensis</i> E13 and <i>B. velezensis</i> JPS19), inoculation with the pathogenic fungus, and the combination of both bacterial strains, were evaluated under greenhouse conditions to investigate the reduction in disease severity and inhibition of the causal fungus. While 73.33% disease severity was observed in the inoculated control sample, the application of the two bacterial strains reduced the disease severity to 6.66%. A suspension of the combination of the two aforementioned bacterial strains was prepared at 10 ⁹ concentration, and the inhibition of pathogen growth was investigated under greenhouse conditions. It was observed that the combination of the two mentioned strains resulted in an 8.83% improvement in tomato plant growth compared to the healthy control, and also led to an increase in the fresh weight of the root and shoot of the plants treated with the two bacterial strains compared to the plants inoculated with FORL (UJ152).
Article history: Received: 28 June 2025 Revised: 30 August 2025 Accepted: 27 September 2025 Published online: Autumn and Winter 2024	
Keywords: <i>Bacillus</i> , <i>Biological control</i> , <i>Fusarium root wilt</i> , <i>Tomato</i> .	
Cite this article: Salari Ganjabadi, S. & Behboudi, K. (2024). Evaluation of the combination of <i>Bacillus velezensis</i> JPS19 and <i>Bacillus thuringiensis</i> E13 in the control of <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>radicis-lycopersici</i> in tomato. <i>Iranian Journal of Plant Protection Science</i> , 55 (2), 349-366. DOI: https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.397451.1007082	
	
© The Author(s). DOI: https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.397451.1007082	Publisher: The University of Tehran Press.

Extended Abstract

Introduction

A suitable method for managing *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* disease is the use of two strains of bacteria, *Bacillus velezensis* JPS19 and *Bacillus thuringiensis* E13, in inoculation into the roots of tomato seedlings. Research has shown that the combination of the two strains mentioned above can reduce tomato wilt disease, and also the two bacterial strains increase the severity disease of tomato plants. As a result, this study was conducted to investigate the increase in plant growth and the reduction of FORL pathogen under greenhouse conditions.

Material and Methods

This study was carried out using tomato seeds of the Flat variety and involved both in vitro and in vivo experiments. In the in vitro phase, the individual and combined effects of *Bacillus thuringiensis* E13 and *Bacillus velezensis* JPS19 on tomato seedling roots were evaluated under controlled laboratory conditions. In the in vivo (greenhouse) experiment, the combined application of the two bacterial strains was tested alongside 8 grams of the FORL pathogen in pots containing sterile soil. The pots were maintained under uniform

greenhouse conditions for 21 days and irrigated every two days to assess pathogen suppression and plant growth response.

Results

First, the inhibitory and antagonistic effects of the two bacterial strains were evaluated in a Petri dish and showed that the inhibitory effect of the two strains *Bacillus thuringiensis* E13 and *Bacillus velezensis* JPS19 in a Petri dish was on the growth of the FORL pathogen mycelium. Then, the antagonistic effect was not observed after cross-culturing the *Bacillus velezensis* JPS19 and *Bacillus thuringiensis* E13 strains in a Petri dish towards each other, and the two bacteria were able to cross-grow without creating an inhibitory zone. Three weeks after inoculation of three treatments of 6, 8 and 12 grams of the FORL pathogen fungus to tomato plants, the plants were observed for signs of infection and after calculating the severity of infection, finally the 8 grams of the pathogen fungus treatment was selected as the best pathogen treatment (between 70 and 90 percent infection) and was used in the test under greenhouse conditions. In the study of the effect of bacterial treatments on increasing plant growth indices in greenhouse conditions, three weeks after inoculation of plants with two strains, *Bacillus velezensis* JPS19 and *Bacillus thuringiensis* E13, the effect of the two strains was observed in improving the indices of root fresh weight, shoot fresh weight, root length, and shoot length of tomato plants. Also, in the evaluation of bacterial treatments in the disease severity test against the FORL pathogen, the treatments were statistically significant at the one percent probability level, so that in the combined combination of two strains *Bacillus thuringiensis* E13 and *Bacillus velezensis* JPS19 with the FORL pathogen, the highest tomato plant weight and the lowest disease severity were observed compared to other treatments, and it was statistically significant with the infected control.

Conclusion

Evidence suggests that using different *Bacillus* strains can help tomato plants grow better and reduce *Fusarium* wilt disease. Notably, combining *Bacillus thuringiensis* E13 and *Bacillus velezensis* JPS19 with the disease-causing fungus (*Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, or FORL) led to the highest plant weight and the lowest disease levels compared to other treatments. These results were significantly better than those from the infected control group. The treatment with JPS19 + FORL and the chemical fungicide (Carbendazim + FORL) showed similar effectiveness. Tests in greenhouse conditions also showed that the two *Bacillus* strains improved root and shoot weight, as well as root and shoot length, compared to both healthy and infected controls. Statistical analysis of variance with LSD post hoc test confirmed that the Carbendazim + FORL treatment showed significant improvement over the healthy control, especially in plant length and weight were significant at the 1% probability level. Overall, using the combination of the two bacteria not only improved plant growth but also greatly reduced disease severity even when plants were infected with 8 grams of the pathogen. The results show that the combination of two bacterial strains, *Bacillus thuringiensis* E13 and *Bacillus velezensis* JPS19, was successful in acting as much as the plants inoculated with the fungicide carbendazim.



ارزیابی ترکیب *Bacillus velezensis* JPS19 و *B. thuringiensis* E13 برای کنترل پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه فرنگی

سارا سالاری گنج آباد^۱ | کیوان بهبودی^۲ ✉

۱. گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: sara.salari@ut.ac.ir

۲. نویسنده مسئول، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: behbodi@ut.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۰۷ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۶/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۰۵ تاریخ انتشار: پاییز و زمستان ۱۴۰۳ کلیدواژه‌ها: باسیلوس، پژمردگی فوزاریومی، ریشه، کنترل بیولوژیک، گوجه فرنگی.	پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه فرنگی که توسط قارچ <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i> (FORL) (UJ152) ایجاد می شود، یکی از بیماری‌های مهم خاکزاد و از مهم‌ترین عوامل ایجاد خسارت در تولید گوجه‌فرنگی در سراسر جهان به شمار می‌آید. استفاده از آنتاگونیست‌های خاکزاد برای افزایش عملکرد و حفاظت از محصول، رویکردی امیدوارکننده در سیستم‌های مدرن کشاورزی پایدار است. اثرات کنترل‌کنندگی ترکیب باکتریایی بر رشد میسلیمی قارچ بیمارگر با کشت در محیط آزمایشگاه بررسی شد. دو استرین <i>Bacillus thuringiensis</i> E13 و <i>B. velezensis</i> JPS19 قادر به تشکیل هاله بازدارنده علیه رشد میسلیمی بیمارگر (UJ152) FORL بودند. در این مطالعه، برای بررسی کاهش شدت بیماری‌زایی و مهار قارچ عامل بیماری، از تیمارهای مختلفی از جمله تلقیح دو استرین باکتریایی <i>B. thuringiensis</i> E13 و <i>B. velezensis</i> JPS19، تلقیح قارچ بیمارگر و ترکیب هر دو استرین باکتریایی، در شرایط گلخانه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفت. به طوری که در نمونه شاهد آلوده ۷۳/۳۳ درصد شدت بیماری مشاهده شد در حالی که استفاده از دو استرین باکتریایی شدت بیماری را به ۶/۶۶ درصد کاهش داد. سوسپانسیون از ترکیب دو استرین باکتری فوق‌الذکر به میزان ۱۰^۹ تهیه و میزان بازدارندگی از رشد بیمارگر در شرایط گلخانه بررسی و مشاهده شد که ترکیب دو استرین یادشده منجر به بهبود رشد گیاه گوجه فرنگی به میزان ۸/۸۳ درصد نسبت به شاهد سالم و همچنین منجر به افزایش وزن تر ریشه و شاخساره گیاهان تیمار شده با دو استرین باکتری در مقایسه با گیاهان آلوده به (UJ152) FORL گردید.

استناد: سالاری گنج آباد، سارا و بهبودی، کیوان (۱۴۰۳). ارزیابی ترکیب *Bacillus velezensis* JPS19 و *B. Thuringiensis* E13 برای کنترل پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی. نشریه دانش گیاهپزشکی ایران، ۵۵ (۲)، ۳۴۶-۳۴۹. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.397451.1007082>



© نویسنندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.397451.1007082>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

گیاه گوجه‌فرنگی با نام علمی *Solanum lycopersicum* یکی از گیاهان مهم خانواده سولاناسه (*Solanaceae*) می‌باشد که به عنوان یکی از محصولات باغی با اهمیت اقتصادی و تغذیه‌ای بالا در سطح جهانی و ایران شناخته می‌شود (Quinet et al., 2019). تولید این محصول همواره در معرض تهدید بیماری‌های گیاهی از جمله قارچ‌های بیمارگر قرار دارد که می‌توانند منجر به کاهش کمی و کیفی عملکرد آن شوند (Panno et al., 2021). پوسیدگی ریشه و طقه گوجه‌فرنگی با عامل قارچی *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (FORL) از بیماری‌هایی است که سالانه علاوه بر خسارت شدید، قارچکشی‌های زیادی در جهت کنترل آن بکار می‌رود (Mazzola, 2002; Minuto et al., 1995; Singh et al., 2009). عامل بیماری، یک قارچ خاکزاد نکروتروف با اهمیت اقتصادی در سراسر جهان در مزارع گوجه‌فرنگی می‌باشد که با انتشار گسترده، بقای طولانی مدت عامل بیماری در خاک و دارا بودن نژادهای فیزیولوژیک مختلف، گاهاً منجر به خسارت و تلفات شدید در گلخانه، محصولات زراعی و کشت هیدروپونیک می‌شود (Minuto et al., 1995). در حال حاضر، استفاده از سموم شیمیایی به عنوان تنها روشی مرسوم در مدیریت این بیماری می‌باشد (Bodah, 2017). به طوری که استفاده از قارچکش‌ها برای کنترل بیماری‌های گیاهی نگرانی‌های زیست‌محیطی متعددی را به دنبال داشته و منجر به ظهور سویه‌های مقاوم در عوامل بیماری‌زا شده است (Gullino et al., 2020). همچنین با توجه به کارایی نسبتاً کم مبارزه شیمیایی و عدم مقاومت به این بیمارگر در ارقام مهم تجاری گوجه‌فرنگی، استفاده از روش‌های کنترل بیولوژیک در جهت مدیریت این بیماری امری ضروری به نظر می‌رسد (Szczechura et al., 2013). میکروارگانیسم‌هایی که در ناحیه ریزوسفر خاک به عنوان اولین خط دفاعی ریشه علیه بیمارگرهای خاکزی مستقر هستند، گزینه مناسبی برای استفاده در برنامه‌های کنترل بیولوژیک هستند (Weller, 1988). میکروکنیدیوم‌های تولید شده توسط این بیمارگر در هوا انتشار یافته و به همین دلیل جلوگیری از پراکنش این بیمارگر بسیار سخت می‌باشد (Datnoff et al., 1995).

باکتری‌های جنس *Bacillus* قادر به تولید متابولیت‌های ضد میکروبی، القای مقاومت سیستمیک (ISR) در گیاهان و رقابت مؤثر با عوامل بیماری‌زا در ریزوسفر بوده و همچنین به دلیل دارا بودن طیف وسیعی از مکانیسم‌های کنترل بیولوژیک، از جمله تولید متابولیت‌های ضد میکروبی متنوع و توانایی تشکیل بیوفیلم نقش مهمی در سرکوب عوامل بیماری‌زای گیاهی ایفا می‌کنند و به عنوان عامل کنترل بیولوژیک امیدوارکننده‌ای در جهت مدیریت بیماری‌های گیاهی مطرح شده است (Compant et al., 2005). گونه‌های جنس *Bacillus* قادر به تولید طیف گسترده‌ای از ترکیبات از جمله لیپوپپتیدهای حلقوی (CLPS) و پروتئین‌های ضد قارچی هستند که نقش مهمی در مهار بیمارگرهای گیاهی دارند (Kwon & Kim, 2014; Ongena & Jacques, 2008). لذا این باکتری‌ها به عنوان یک عامل کنترل زیستی ایده‌آل در نظر گرفته شده و به طور گسترده مورد تحقیق و استفاده قرار گرفته‌اند. گونه *B. velezensis* به عنوان یک باکتری محرک رشد گیاه و عامل کنترل بیولوژیک، در مهار قارچ‌های بیمارگر و به طور کلی مدیریت بیماری‌های گیاهی از جمله بیماری‌های ناشی از قارچ فوزاریوم موثر بوده‌اند (Ongena & Jacques, 2008). از سوی دیگر، گونه *B. thuringiensis* به دلیل توانایی تولید پروتئین‌های کریستالی یک حشره‌کش بالقوه است که برخی از استرین‌های آن نیز دارای عملکرد بازدارندگی و مهار قارچ بیمارگر بوده و می‌توانند در مدیریت بیماری‌های گیاهی ایفا نقش کنند (Raymond, 2017). در این پژوهش برای بررسی میزان کنترل بیماری، تیمار قارچکش کاربندازیم نیز در قیاس با دو استرین باکتری *B. velezensis* JPS19 و *B. thuringiensis* E13 به کار رفت.

هدف از این پژوهش، ارزیابی پتانسیل و کارایی ترکیب دو استرین باکتریایی *B. thuringiensis* و *B. velezensis* JPS19 برای کنترل بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی به منظور توسعه یک استراتژی بیولوژیک مؤثر و پایدار برای مدیریت این بیماری در کشت گوجه‌فرنگی می‌باشد.

پیشینه پژوهش

در تحقیقی که رامیرز و همکاران روی باکتری های ریزوسفری ریشه گوجه فرنگی علیه FORL انجام دادند، از بین ۲۵۴ باکتری جدا شده از ریزوسفر ریشه گوجه فرنگی، تنها باکتری های *B. cereus*، *B. pumilus*، *Bacillus megaterium* و *B. subtilis*، جنس *Acinetobacter* دارای پتانسیل بالای آنتاگونیستی علیه پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی بودند که علاوه بر خاصیت آنتاگونیستی توانایی نیتریفیکاسیون هتروتروف و دنیتریفیکاسیون هوازی را نیز دارا می باشند (Pérez-Gutiérrez et al., 2013). در بین ریزوموجودات متعددی که در کنترل بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی نقش دارند می توان به گونه های مختلف *Trichoderma* اشاره کرد که از طریق مکانیزمهای آنتی بیوز و پارازیتسم می تواند باعث سرکوب بیمارگر و یا کاهش اثرات آن شوند (Howell, 2003). منافی و همکاران (۱۳۹۱) میزان مقاومت ارقام رایج کشت گوجه فرنگی در گلخانه های استان آذربایجان شرقی به بیماری پژمردگی فوزاریومی ناشی از *Fusarium* (FOL) *oxysporum f. sp. lycopersici* و *F. oxysporum radices-lycopersici* و امکان کنترل زیستی این بیماری را با به کارگیری دو جدایه از قارچ *Trichoderma harzianum* T-22 و جدایه باکتریایی *Pseudomonas fluorescens* CHA0 را به عنوان عامل آنتاگونیست مورد آزمون قرار دادند. نتایج بررسی اثر آنتاگونیستی نشان داد که عوامل بیولوژیکی نامبرده به ترتیب ۴۸/۴۲ و ۴۱/۲۱ و ۳۳/۰۸ درصد رشد قارچ بیمارگر را در مقایسه با شاهد کاهش داده و رقم دانفیلد را به عنوان حساسترین رقم و جدایه ی *Fusarium oxysporum f. sp. radices-lycopersici* (C142) را به عنوان بیماری زا ترین جدایه معرفی نموده اند. آقای و همکاران (۱۳۹۸) به بررسی اثر آنتاگونیستی تریکودرما + باسیلوس پرداختند. یافته ها حاکی از توانایی متفاوت این دو میکروارگانیسم در مهار رشد و کلونیزاسیون قارچ عامل بیماری بود. به ویژه، جدایه های تریکودرما کارایی بهتری در کاهش شدت بیماری از خود نشان دادند. همچنین، تأثیر این آنتاگونیست ها بر فاکتورهای رشد گیاه نیز در این مطالعه مورد آزمایش قرار گرفت و نتایجی که به دست آمد از ارزیابی اثر جدایه های تریکودرما و باسیلوس بر شاخص شدت بیماری نشان داد که این جدایه ها بر کاهش شدت بیماری پژمردگی آوندی فوزاریومی موثر بودند. در این بررسی مشخص شد تیمار مربوط به کاربرد توأم جدایه های تریکودرما (Fol30+Ta14+Th) به طور معنی داری بیشترین اثر را بر کاهش شاخص شدت بیماری داشت (Aleaghaee et al., 2019). باکتری های آنتاگونیست موجود در باقی مانده کمپوست های کشاورزی و صنعتی دارای مکانیزم های متفاوتی در برابر عوامل بیماری زای خاکزاد گیاهی می باشند. درصد بالایی از جدایه هایی که دارای خصوصیات آنتاگونیستی می باشند به علت داشتن آنزیم های کیتیناز و بتا گلوکاناز دیواره سلولی قارچ های باقی مانده در کمپوست های تولید قارچ های دکمه ای را تبدیل به سوسترای مناسب جهت استقرار نموده و با استعمال این کمپوست ها می توان شدت بیماری فوزاریومی ناشی از بیمارگرهای *F. oxysporum f. sp. radices-lycopersici* و *F. oxysporum f. sp. lycopersici* را کاهش داد. باکتری های آنتاگونیست موجود در کمپوست های قارچ دکمه ای شامل جنس های *Bacillus*، *Serratia*، *Entrobacter*، *Lysinibacillus* و *Alcaligenes* به عنوان عامل کنترل بیولوژیک علیه بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی کاربرد دارند (Kavroulakis et al., 2010; Vaidya et al., 2003).

در بین بیماری های مهم گوجه فرنگی، پژمردگی فوزاریومی دارای اهمیت جهانی بوده و در بیش از سی و دو کشور جهان دیده شده است (Jones et al., 2008). این بیماری برای اولین بار در سال ۱۹۶۹ در ژاپن (با کاهش عملکرد تا چهل درصد) (Yamamoto et al., 1974) و متعاقباً در کالیفرنیا در سال ۱۹۷۱ و سپس در سایر ایالات متحده (کاهش بازده تا ۵۰٪ کاهش) توصیف شد. در برخی ایالات آمریکا خسارت ناشی از این بیماری ۱۰۰-۸۰ درصد تخمین زده شد (Özbay & Newman, 2004). اولین گزارش این بیماری در ایران در سال ۱۳۶۴ توسط فصیحیانی از استان هرمزگان (فصیحیانی، ۱۳۶۴) و سپس از حومه ورامین با حداکثر آلودگی ۳/۲۷ درصد گزارش گردید (اعتباریان، ۱۳۷۱). تغییرات ژنومی در مراحل اولیه بروز بیماری FORL در گوجه فرنگی، هنوز به خوبی شناخته نشده اند. دانش دقیق تر در مورد تعامل بین گوجه فرنگی و این قارچ

خاکزاد می تواند منجر به کشف راه های کارآمدتر برای کنترل این بیماری شود (Manzo et al., 2016). مدیریت بیماری پژمردگی گوجه فرنگی از طریق ضد عفونی خاک با استفاده از ترکیبات شیمیایی تدخینی و یا کاشت ارقام مقاوم صورت می پذیرد، با این حال تولید نژادهای جدید در دو گونه قارچی FOL و FORL باعث شکسته شدن مقاومت در ارقام گوجه فرنگی می شوند. علاوه بر این با توجه به بقای طولانی مدت عامل بیماری در خاک و دشواری مبارزه شیمیایی با آن استفاده از روش های مدیریتی کنترل زیستی از اهمیت خاصی برخوردار است (Ajillogba & Babalola, 2013).

روش شناسی پژوهشی

در ابتدای پژوهش، آزمون های درون آزمایشگاهی انجام گرفت و سپس در شرایط گلخانه ای و در طی یک دوره ۲۱ روزه، روی گیاهچه های گوجه فرنگی ادامه یافت. نخست، بذر گوجه فرنگی رقم فلات و FORL جدا به UJ152 و استرین های باکتریایی *Bacillus velezensis* JPS19 و *B. thuringiensis* E13 از کلکسیون بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی دانشگاه تهران تهیه گردید (سیفی. س، ۱۳۹۴). در این مطالعه، دو آزمایش مجزا طراحی گردید. در آزمایش اول، دو استرین باکتری به ریشه گیاهچه های گوجه فرنگی تلقیح شد و در آزمایش دوم، علاوه بر تلقیح آن دو استرین باکتری به ریشه گیاهچه ها، مایه تلقیح قارچ بیمارگر (۸ گرم وزنی بذر گندم آلوده به قارچ) به گلدان هایی با گنجایش ۲۷۶ گرم خاک سترون افزوده و با خاک مخلوط شد. تمام گیاهان در هر دو آزمایش، به مدت سه هفته در شرایط محیطی کاملاً یکسان در گلخانه نگهداری شدند (Maurya et al., 2019). این تحقیق در آزمایشگاه کنترل بیولوژیک، گروه گیاهپزشکی، دانشکده گان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران انجام شد.

بذر و میکروارگانسیم های مورد استفاده

از بذر گوجه فرنگی رقم فلات (تهیه شده از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج) و همچنین از قارچ بیمارگر UJ152 FORL و استرین های باکتریایی *B. thuringiensis* E13 و *B. velezensis* JPS19 (تهیه شده از کلکسیون قارچ شناسی و باکتری های آنتاگونیست (سیفی. س، ۱۳۹۴) بخش بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی دانشگاه تهران) استفاده گردید.

اثر باکتری ها در جلوگیری از رشد قارچ بیمارگر درون تشتک پتری

به منظور بررسی اثر بازدارندگی باکتری *B. thuringiensis* E13 و *B. velezensis* JPS19 از رشد بیمارگر (UJ152) FORL در مقیاس آزمایشگاهی درون تشتک پتری از روش (Hagedorn et al., 1989) استفاده شد. به این صورت که دو استرین به صورت نقطه ای روی محیط کشت NA به همراه PDA (به نسبت مساوی) به فاصله نیم سانتی متر از لبه تشتک پتری به صورت منفرد کشت داده شدند. همچنین، یک تشتک پتری حاوی محیط کشت بدون عامل آنتاگونیست به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. پس از گذشت ۴۸ ساعت، قرصی به قطر نیم سانتی متر از محیط کشت دارای بیمارگر FORL (UJ152) در وسط تشتک پتری قرار گرفت. تشتک های پتری به مدت یک هفته در دمای ۲۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند. تشکیل هاله های بازدارندگی توسط هر یک از دو باکتری به عنوان واکنش مثبت از بازدارندگی رشد بیمارگر تلقی شد. برای ارزیابی قدرت بازدارندگی، فاصله بین پرگنه باکتری و میسلیم بیمارگر اندازه گیری و به منظور بررسی تکرارپذیری نتایج، آزمایش در سه تکرار انجام گرفت.

آزمایش تأثیر آنتاگونیستی باکتری ها علیه یکدیگر درون تشتک پتری

دو استرین های *B. thuringiensis* E13 و *B. velezensis* JPS19 روی محیط کشت آگار مغذی (NA) درون تشتک پتری به روش کشت متقاطع، بطور مخطط کشت شدند، بدین صورت که ابتدا باکتری *B. thuringiensis* E13 به طور مخطط کشت شد و پس از گذشت ۴۸ ساعت، باکتری دوم *B. velezensis* JPS19 بصورت رگه هایی عمود بر باکتری اول کشت شد

تا اثر آنتاگونیستی آن‌ها نسبت به هم مشخص شود. سپس، ابتدا باکتری *B. velezensis* JPS19 درون تشتک پتری کشت شد و پس از ۴۸ ساعت باکتری *Bacillus thuringiensis* E13 بصورت رگه‌هایی عمود بر باکتری اول کشت شد (Lertcanawanichakul & Sawangnop, 2008). تشتک‌های پتری در دمای ۲۷-۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۴-۴۸ ساعت نگهداری و در نهایت وجود یا عدم وجود هاله‌ی بازدارنده که در نتیجه فعل و انفعالات رشدی دو استرین باکتری نسبت به هم تشکیل می‌شود، مورد بررسی قرار گرفت (Nguyen & Ranamukhaarachchi, 2010).

بررسی گلخانه‌ای

تهیه زاده مایه‌ی قارچ بیمارگر و ارزیابی شدت بیماری‌زایی آن

صد گرم بذر گندم شست و شو شد و همراه با ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر در داخل ظرف ارلن مایر ۵۰۰ میلی لیتر ریخته و در سه روز متوالی، به مدت ۳۰ دقیقه در اتوکلاو سترون شد. با رعایت شرایط سترون، سه قرص پنج میلی متری از کشت جوان (سه روزه) قارچ بیمارگر (UJ152) FORL به ظرف اضافه و به مدت چهار هفته در دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس نگهداری شد (Frommel *et al.*, 1991). پس از رسیدن گیاهان گوجه فرنگی به مرحله سه تا چهار برگی، مایه تلقیح قارچ (UJ152) FORL به میزان ۸ گرم وزن شد و به خاک درون گلدان‌ها اضافه گردید و پس از گذشت سه هفته، علائم پژمردگی ریشه، افتادگی ساقه و مرگ گیاه بر اساس میزان آلودگی مشاهده شد و شاخص نمره‌دهی بر اساس میزان شدت بیماری به این صورت که به گیاهان سالم بدون هیچ علائم آلودگی نمره صفر، گیاهان دارای پوسیدگی خفیف ریشه (کمتر از ۱۰ درصد از کل سطح) نمره یک، گیاهان با لکه‌های تیره ۲۵ درصد از ریشه نمره دو، گیاهان با لکه‌هایی در نصف سطح ریشه، پوسیدگی شدید در ریشه اصلی نمره سه، گیاهان با لکه‌هایی به میزان ۷۵ درصد از کل سطح ریشه نمره چهار و به گیاهان با آلودگی شدید در کل ناحیه ریشه نمره پنج تعلق می‌گیرد. در این تحقیق سه حالت مختلف از مایه تلقیح (UJ152) FORL که شامل ۱۲، ۸ و ۶ گرم بودند بررسی شد و سپس میزان شدت بیماری‌زایی برای هر کدام محاسبه شد (Çakır *et al.*, 2014). پس از گذشت سه هفته، ریشه‌ها به آرامی با آب شسته شده و شدت بیماری‌زایی آن‌ها براساس مقیاس صفر تا پنج، ارزیابی شد (Banerjee *et al.*, 1990; Bora *et al.*, 2004).

شاخص بیماری (DI = Disease Index) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Cakir *et al.*, 2014).

$$\text{Disease index} = \frac{\sum (\text{rating number} \times \text{number of plants in the})}{(\text{total number of plants} \times \text{highest index})} \times 100$$

تهیه مایه تلقیح باکتری

یک لوپ از باکتری رشدیافته روی محیط کشت NA به ظرف ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتر حاوی ۵۰ میلی لیتر محیط کشت NB^۱ منتقل و به مدت ۴۸ ساعت درون شیکر انکوباتور با سرعت ۱۲۰ rpm و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرارداده شد. پس از اطمینان از رشد سلول‌های باکتری، محیط کشت درون فالكون‌های ۵۰ میلی لیتری سترون تقسیم و با استفاده از سانتریفیوژ، در سرعت ۴۰۰۰ rpm در دمای اتاق و به مدت ۱۰ دقیقه، سلول‌های باکتری از محیط مایع NB جدا شدند، فاز رانشین را دور ریخته و به منظور حذف باقیمانده‌ی محیط غذایی، ۲۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژیک به رسوب بدست آمده اضافه شد. پس از سانتریفیوژ مجدد مطابق فوق، رانشین دور ریخته و به رسوب سرم فیزیولوژیک اضافه کرده و سوسپانسیون تهیه

شد. سپس به روش اسپکتوفتومتری و در طول موج ۶۰۰ نانومتر (nm)، جمعیت باکتری در 10^8 CFU/ml تنظیم شد (J. A. L. García et al., 2004).

تأثیر باکتری در افزایش رشد گیاه گوجه فرنگی در گلخانه

تأثیر دو استرین *B. thuringiensis* E13 و *B. velezensis* JPS19 روی گیاهان گوجه‌فرنگی رقم فلات مورد بررسی قرار گرفت. مطابق روش بررسی تأثیر باکتری علیه بیمارگر در شرایط گلخانه، ریشه گیاهچه‌ها در محلول تهیه شده دو استرین به صورت مجزا به میزان 10^9 سلول در میلی لیتر قرار داده شد و سپس در گلدان حاوی خاک زراعی سترون کشت شدند. برای هر تیمار چهار تکرار در نظر گرفته شد. پس از گذشت ۲۱ روز، پارامترهای طول و وزن تر ریشه و شاخساره گیاه ارزیابی گردید.

بررسی تأثیر باکتری علیه بیمارگر در شرایط گلخانه

از گلدان‌های پلاستیکی با ارتفاع و قطر دهانه ۱۴ سانتی‌متر و گنجایش ۲۷۶ گرم خاک استفاده شد. درون گلدان‌ها میزان ۸ گرم از مایه تلقیح (UJ152) FORL اضافه شد (Frommel et al., 1991). ریشه گیاهچه‌ها در مرحله سه تا چهار برگی به مدت یک دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۰/۲۵ درصد ضدعفونی سطحی شده و جهت زدودن هیپوکلریت سدیم از آن‌ها سه بار در آب مقطر شست و شو داده شد. برای آماده سازی مایه تلقیح، ابتدا 10^9 سلول در میلی‌لیتر از دو استرین *B. velezensis* JPS19 و *B. thuringiensis* E13 به صورت مجزا و سپس سوسپانسیونی از ترکیب دو استرین به میزان فوق‌الذکر تهیه کرده و سپس ریشه‌ها را به مدت ۳۰ دقیقه درون محلول قرار داده و درون گلدان حاوی خاک زراعی سترون کاشته شدند (Bao et al., 2002). همچنین محلول تهیه شده کاربندازیم (پودر و تابل ۶۰ درصد) به غلظت ۲/۵ در هزار به همراه قارچ بیمارگر (UJ152) FORL، به گیاهچه‌ها در مرحله سه الی چهار برگی به صورت آبیاری به هر گلدان اضافه شد. نمونه شاهد اول گیاهچه کشت شده در خاک عاری از آلودگی به قارچ بیمارگر بدون تیمار سوسپانسیون باکتری در نظر گرفته و شاهد دوم، گیاهچه کشت شده در خاک حاوی قارچ بیمارگر بدون تیمار سوسپانسیون باکتری بود. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و شرایط یکسان محیطی (نور و دما) انجام گردید و برای هر تیمار چهار تکرار در نظر گرفته شد. گلدان‌های حاوی گیاهچه‌های کشت شده، در اتاقک رشد در دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری و هر دو روز یکبار آبیاری صورت گرفت (Maurya et al., 2019).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

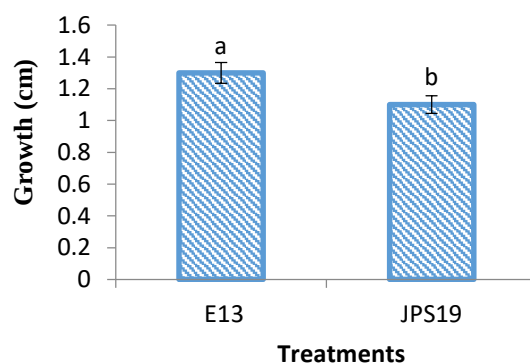
نتایج به دست آمده، در قالب طرح کاملاً تصادفی و به وسیله نرم افزار SPSS نسخه 27.0.1 تحت سیستم عامل ویندوز مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. پس از محاسبه انحراف معیار و میانگین اعداد بدست آمده، تجزیه و تحلیل واریانس به روش یک عاملی (ANOVA) و آزمون تعقیبی حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال یک درصد انجام گردید.

یافته‌های پژوهش

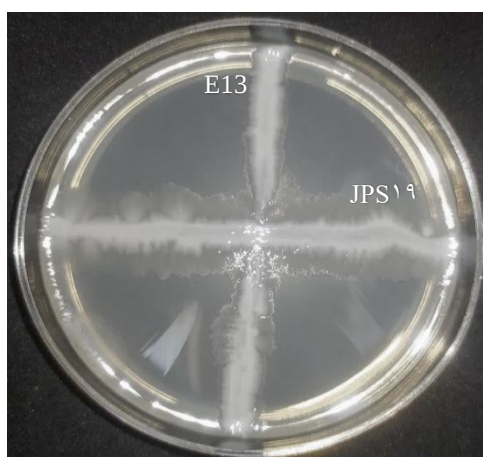
اثر بازدارندگی و آنتاگونیستی دو استرین باکتری درون تشک پتری

نتایج حاکی از قدرت بازدارندگی دو استرین *B. thuringiensis* E13 و *B. velezensis* JPS19 درون تشک‌های پتری علیه رشد میسلیمی بیمارگر (UJ152) FORL بود، به طوری که استرین *B. thuringiensis* E13 هاله‌ی بازدارندگی به قطر $1/3$ سانتی‌متر و استرین *Bacillus velezensis* JPS19 هاله‌ای به قطر $1/1$ سانتی‌متر ایجاد کرد که نمایانگر تولید متابولیت‌های بازدارنده توسط این باکتری‌ها می‌باشد (شکل ۱). در مطالعه نوروزیان و همکاران که به بررسی تأثیر سویه‌های باکتریایی بر رشد میسلیمی قارچ *Fusarium graminearum* در شرایط آزمایشگاهی پرداختند، مشخص شد که بیووار ۱۳۲ از باکتری *Pseudomonas fluorescens* و استرین ۳ از قارچ *Streptomyces* sp. توانایی بازدارندگی از رشد میسلیمی قارچ *F. graminearum* را در کشت متقابل دارند. در حالی که سویه ۵۳ از باکتری *Bacillus subtilis* تأثیر کمتری در مهار

رشد بیمارگر داشت. علاوه بر این، در مطالعات پیشین پتانسیل بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر توسط باکتری‌های *Bacillus* sp.، *Pseudomonas* sp. و *Escherichia* sp. مشخص شده که شامل مهار رشد میسلیومی برخی گونه‌های بیماری‌زای متعلق به جنس‌های قارچی *Aspergillus*، *Penicillium* و *Fusarium* نیز می‌باشد (Nourozian et al., 2006). همچنین مشخص گردید که استرین‌های باکتریایی دارای فعالیت آنتاگونیستی متفاوتی علیه قارچ‌های بیمارگر هستند (Khokhar et al., 2011). هیچ اثر آنتاگونیستی پس از کشت متقاطع استرین‌های *B. velezensis* JPS19 و *B. thuringiensis* E13 درون تشک پتری نسبت به یکدیگر مشاهده نشد و دو باکتری بدون ایجاد هاله بازدارندگی توانستند رشد متقاطع داشته باشند (شکل ۲). قارچ آنتاگونیست *Trichoderma harzianum* Tr6 قادر به مهار رشد باکتری *Ralstonia solanacearum* بوده به طوری که در بررسی روش‌های آزمایشگاهی از جمله روش پلیت آگار و روش کشت متقاطع، هاله‌های بازدارندگی از رشد با قطر بیش از ۱۰ میلی‌متر ایجاد نمود که این امر نشان دهنده توانایی قارچ در مهار بیمارگر می‌باشد (Nguyen & Ranamukhaarachchi, 2010).



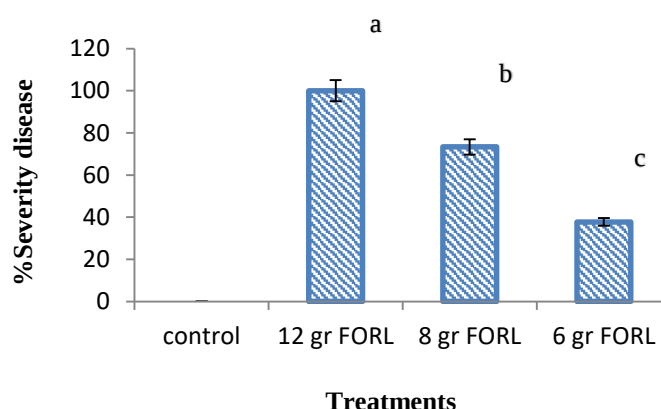
شکل ۱. مقایسه‌ی قدرت بازدارندگی دو استرین *B. thuringiensis* E13 و *B. velezensis* JPS19 علیه بیمارگر FORL (UJ152) درون تشک پتری



شکل ۲. کشت متقاطع استرین‌های *B. thuringiensis* E13 و *B. velezensis* JPS19 درون تشک پتری، به این صورت که ابتدا باکتری *Bacillus* *velezensis* JPS19 درون تشک پتری کشت داده شد و پس از ۴۸ ساعت باکتری دوم *Bacillus thuringiensis* E13 به صورت عمود بر باکتری اول کشت شد. اثر آنتاگونیستی آن‌ها بررسی گردید به طوری که هاله‌ی بازدارنده نسبت به یکدیگر مشاهده نشد.

ارزیابی شدت بیماری زایی

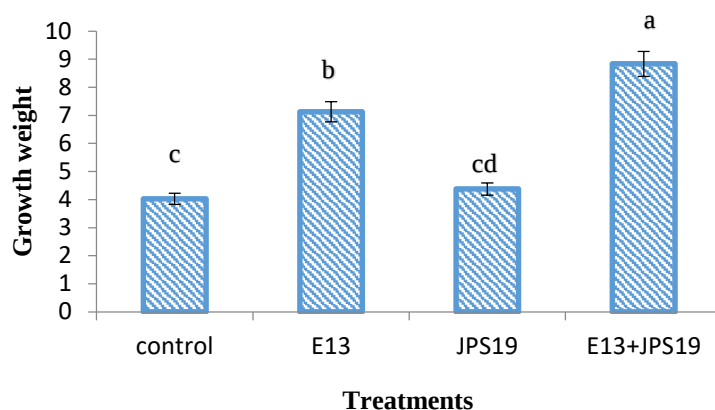
پس از آغشته سازی گیاهان گوجه فرنگی با مایه تلقیح (UJ152) FORL سه تیمار ۱۲، ۸ و ۶ گرم، بعد از سه هفته گیاهان از نظر علائم آلودگی مشاهده شدند و پس از محاسبه میزان شدت آلودگی، در نهایت، تیمار حاوی ۸ گرم از مایه تلقیح قارچ بیمارگر به عنوان مؤثرترین تیمار (با ایجاد ۷۰ تا ۹۰ درصد آلودگی) انتخاب شد. شایان ذکر است که مقدار ۱۲ گرم از مایه تلقیح منجر به از بین رفتن کامل گیاه گردید، لذا برای بررسی های بعدی در شرایط گلخانه، مقدار ۸ گرم به عنوان گزینه مناسب مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۳).



شکل ۳. میزان شدت بیماری در گیاهان گوجه فرنگی در اثر تیمار با قارچ بیمارگر FORL (UJ152) نسبت به شاهد. تحلیل واریانس با آزمون تعقیبی حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال یک درصد انجام گردید. حروف غیر مشترک در هر نمودار نشان دهنده اختلاف در سطح احتمال یک درصد می باشد ($p \leq 0.01$).

اثر باکتری ها در افزایش شاخص های رشدی گیاه در شرایط گلخانه

سه هفته پس از تلقیح گیاهان با دو استرین *B. thuringiensis* E13 و *B. velezensis* JPS19 در شرایط گلخانه، بررسی اثر این دو استرین در بهبود شاخص های وزن تر ریشه، وزن تر شاخساره، طول ریشه و طول شاخساره گیاه گوجه فرنگی نسبت به شاهد نشان داد که هر یک از استرین ها به تنهایی به میزان قابل توجهی باعث افزایش شاخص های رشدی گیاه شدند و همچنین در تیمار ترکیبی این دو استرین مشاهده شد که دارای پتانسیل بالایی در افزایش رشد گیاه در شرایط گلخانه می باشد به طوری که به میزان بیش از ۴۰ درصد توانستند سبب افزایش رشدی گیاه گوجه فرنگی شوند (شکل ۴). تلقیح ترکیبی این دو استرین می تواند ناشی از مکانیسم های تحریک رشد گیاه، از جمله تولید هورمون های رشد و بهبود جذب مواد مغذی از طریق توسعه سیستم ریشه باشد (شکل ۵).



شکل ۴. تاثیر تلقیح دو استرین *Bacillus thuringiensis* E13 و *Bacillus velezensis* JPS19 روی پارامتر رشدی گیاه گوجه‌فرنگی نسبت به شاهد. تحلیل واریانس با آزمون تعقیبی حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال یک درصد انجام گردید. حروف غیرمشترک در هر نمودار نشان دهنده اختلاف در سطح احتمال یک درصد می‌باشد ($p \leq 0.01$).



شاهد

E13

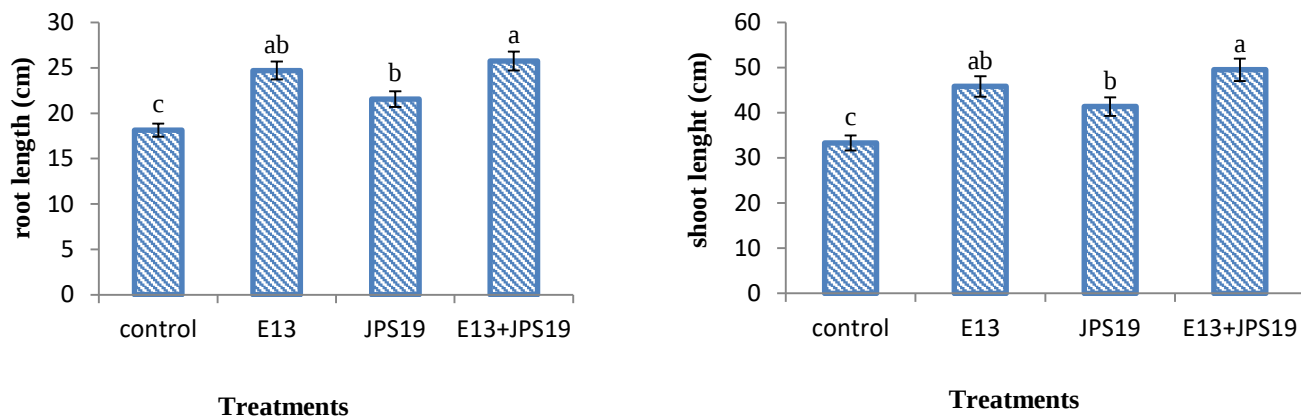
JPS19

JPS19 + E13

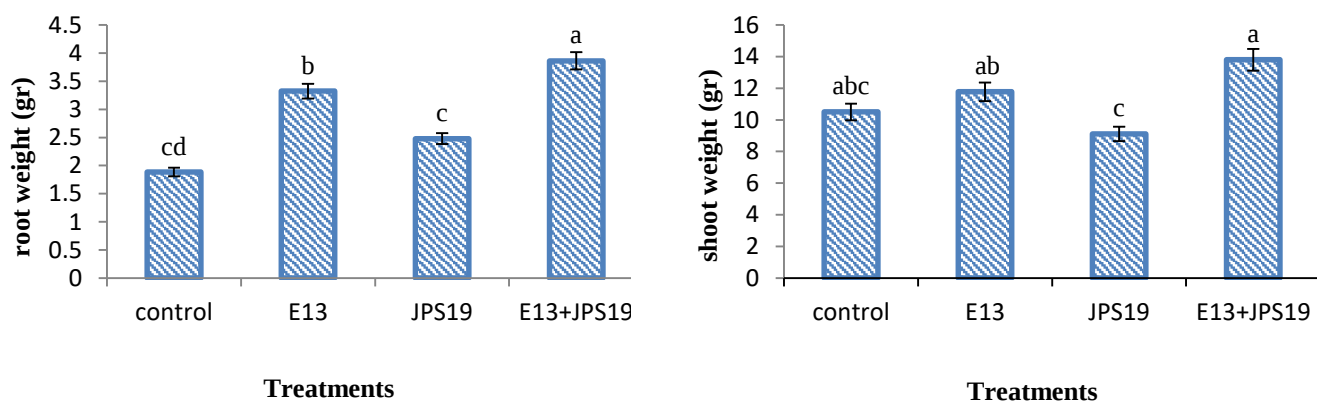
شکل ۵. تاثیر هریک از دو استرین *Bacillus thuringiensis* E13 و *Bacillus velezensis* JPS19 و ترکیب آنها بر افزایش شاخص‌های رشدی گیاه گوجه‌فرنگی در مقایسه با شاهد.

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس با آزمون تعقیبی LSD نشان داد که در مقایسه شاهد و تلقیح ترکیبی دو استرین *B. thuringiensis* E13 و *B. velezensis* JPS19، در شاخص‌های طول ریشه و طول شاخساره تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد با شاهد نشان داد ($p \leq 0.01$). به طوری که در تلقیح ترکیبی دو استرین باکتری، میانگین پارامترهای طول ریشه و شاخساره به ترتیب عدد ۲۵/۷۵ و ۴۹/۵۰ سانتی‌متر به دست آمد در حالی که شاهد سالم به ترتیب ۱۸/۱۴ و ۳۳/۲۸ سانتی‌متر بود که نشان دهنده اثر مثبت تلقیح گیاهان گوجه‌فرنگی با استرین‌های باکتریایی *B. thuringiensis* E13 و *B. velezensis* JPS19 به ویژه ترکیب سوسپانسیون این دو استرین بر شاخص‌های رشدی آن‌ها نسبت به شاهد است (شکل ۶). همچنین میانگین پارامترهای وزن ریشه و شاخساره به ترتیب عدد ۳/۸۶ و ۱۲/۹۶ گرم به دست آمد در حالی که شاهد سالم به ترتیب ۱/۸۸ و ۱۱/۹۳ گرم بود (شکل ۷). دو تیمار E13 و JPS19+E13 از نظر آماری تفاوت ندارند و در یک گروه آماری قرار می‌گیرند و همان‌طور که به نظر می‌رسد افزایش شاخص‌های رشدی گیاه مربوط به اثر ترکیب دو استرین می‌باشد. در پژوهش

سیفی (۱۳۹۴)، تیمار E13 به عنوان تولید کننده هورمون رشد بر روی بذر گیاه گوجه فرنگی مورد استفاده قرار گرفت که موجب جوانه زنی بذر به میزان ۵۸ درصد نسبت به شاهد و همچنین باعث افزایش شاخص های رشدی گیاه گردید.



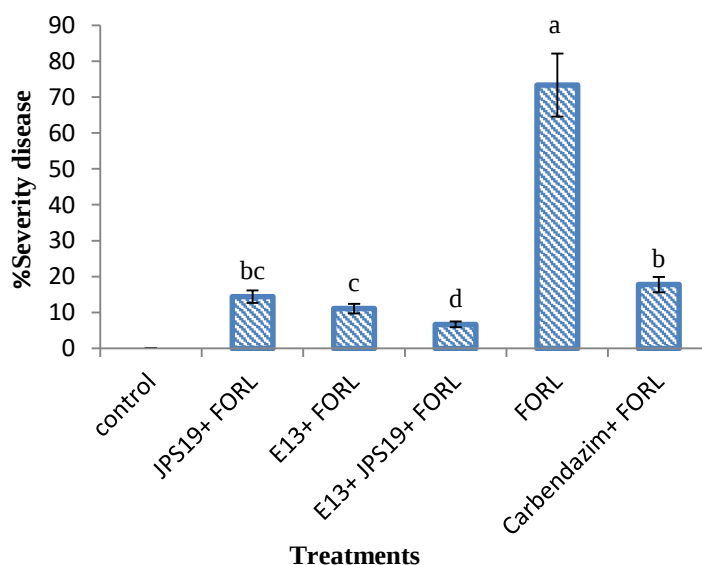
شکل ۶. تاثیر دو استرین *Bacillus thuringiensis* E13 و *Bacillus velezensis* JPS19 بر افزایش پارامتر طول ریشه و طول شاخساره گیاه گوجه فرنگی نسبت به شاهد. تحلیل واریانس با آزمون تعقیبی حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال یک درصد انجام گردید. حروف غیر مشترک در هر نمودار نشان دهنده اختلاف در سطح احتمال یک درصد می باشد ($p \leq 0.01$).



شکل ۷. تاثیر دو استرین *Bacillus thuringiensis* E13 و *Bacillus velezensis* JPS19 بر افزایش پارامتر وزن ریشه و وزن شاخساره گیاه گوجه فرنگی نسبت به شاهد. تحلیل واریانس با آزمون تعقیبی حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال یک درصد انجام گردید. حروف غیر مشترک در هر نمودار نشان دهنده اختلاف در سطح احتمال یک درصد می باشد ($p \leq 0.01$).

تأثیر باکتری‌ها بر شدت بیماری ناشی از FORL (UJ152) در شرایط گلخانه

سه هفته پس از تلقیح گیاهان گوجه فرنگی با تیمار ترکیبی تلفیق دو استرین *B. thuringiensis* E13 و *B. velezensis* JPS19 با قارچ بیمارگر و نیز تیمار ترکیبی و قارچ کش کاربندازیم به همراه قارچ بیمارگر، گیاهان مورد بررسی قرار گرفتند. ارزیابی آزمون شدت بیماری‌زایی، تیمارها از نظر آماری در سطح احتمال یک درصد معنی دار بودند به طوری که ترکیب دو استرین به همراه با قارچ بیمارگر در مقایسه با تیمارهای دیگر بیشترین وزن ریشه و شاخساره گیاه گوجه فرنگی و کمترین شدت بیماری مشاهده شد و نسبت به شاهد آلوده، تفاوت آماری معنی‌داری را نشان داد. همچنین تیمارهای FORL (UJ152) + JPS19 و FORL (UJ152) + Carbedazim از نظر آماری در یک سطح قرار گرفتند (شکل ۸). ارزیابی اثر دو استرین E13 و JPS19 در بهبود شاخص‌های وزن تر ریشه، وزن تر شاخساره، طول ریشه و طول شاخساره گیاه گوجه فرنگی در شرایط گلخانه‌ای در مقایسه با شاهد سالم و شاهد آلوده نشان داد که تیمار ترکیبی دو استرین به همراه قارچ بیمارگر، قادر به مهار بیشتر بیماری در گیاهان تیمار شده نسبت به شاهد آلوده هستند (شکل ۹). شدت بیماری به عنوان یک شاخص کمی، امکان مقایسه اثربخشی استرین‌های مختلف را علیه بیمارگر فراهم می‌کند. در پژوهش لوکاس و همکاران اثر باکتری *B. licheniformis* بر علیه *Xanthomonas campestris* در شرایط گلخانه‌ای بررسی و مشاهده شد که طول شاخساره گیاهان نسبت به شاهد به طور قابل توجهی افزایش یافته و پس از گذشت یک ماه و نیم تعداد میوه گوجه فرنگی و فلفل در هر بوته و ارتفاع گیاهان تیمار شده به طور قابل توجهی بیشتر از شاهد بود (J. A. L. García et al., 2004). استقرار PGPRهای تلقیح‌شده در سیستم ریشه، که نشان‌دهنده تعامل نزدیک‌تر بین باکتری‌ها و ریشه‌های گیاه است، پیش‌نیاز اثرات مفید رشد گیاه محسوب می‌شود (J. A. L. García et al., 2004; Lucas et al., 2003).



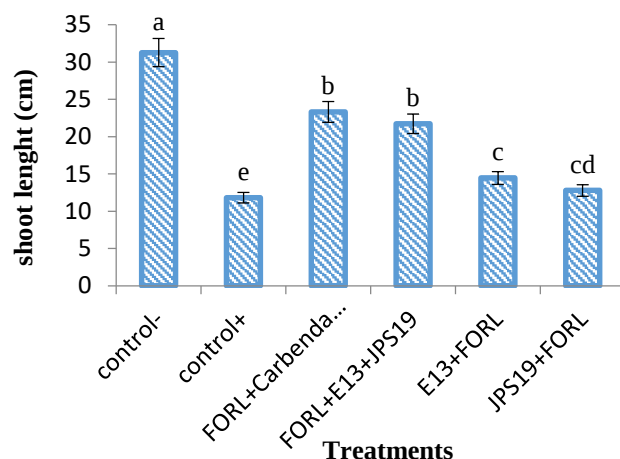
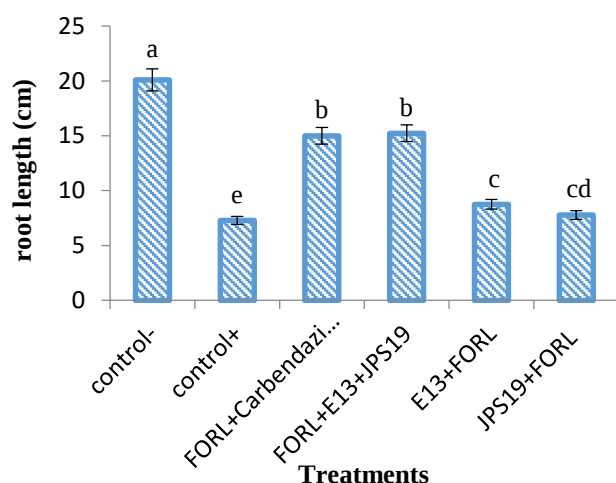
شکل ۸. شدت بیماری‌زایی FORL (UJ152) در مقایسه با شاهد، تحلیل واریانس با آزمون تعقیبی حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال یک درصد انجام گردید. حروف غیر مشترک در هر نمودار نشان دهنده اختلاف در سطح احتمال یک درصد می‌باشد ($p \leq 0.01$).



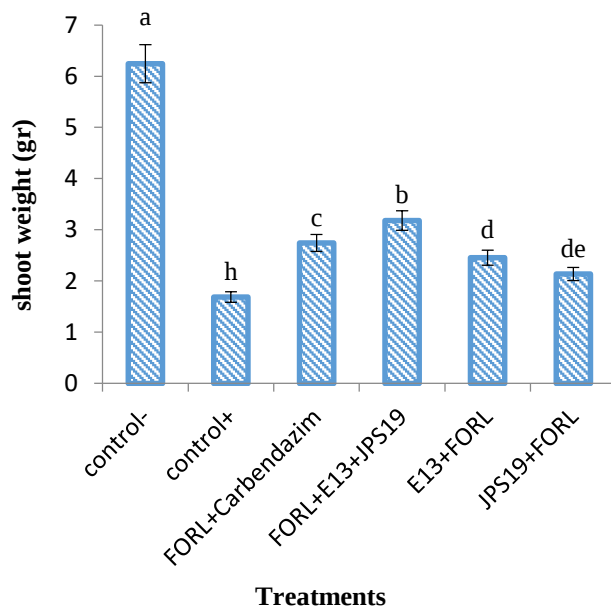
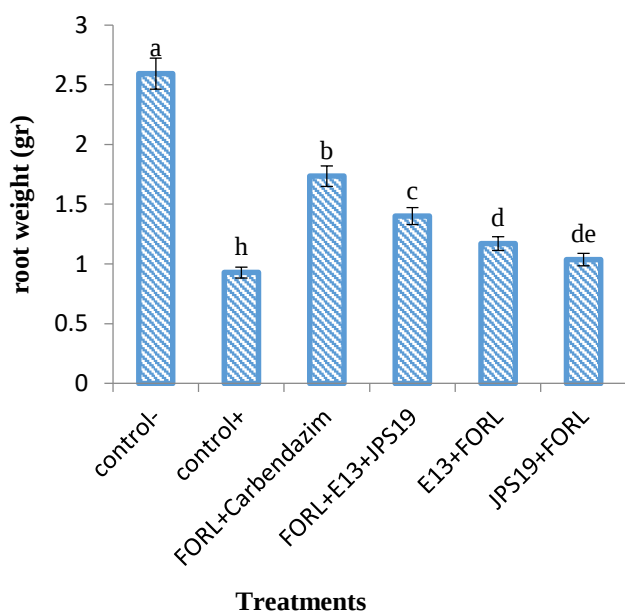
شکل ۹. تاثیر استرین های باکتری بر کاهش شدت بیماری FORL (UJ152) در مقایسه با شاهد آلوده و شاهد سالم.

نتایج تحلیل واریانس آزمون LSD نشان داده شد که طول و وزن گیاه در تیمار قارچکش کاربندازیم به همراه قارچ بیمارگر در مقایسه با شاهد سالم در سطح احتمال یک درصد معنی دار می باشد ($p \leq 0.01$). به طوری که در تلقیح ترکیبی دو استرین *B. thuringiensis* E13 و *B. velezensis* JPS19 به همراه با قارچ بیمارگر، میانگین طول ریشه و طول شاخساره به ترتیب عدد ۱۵/۲۲ و ۲۱/۷۲ سانتی متر نسبت به شاهد آلوده که به ترتیب ۷/۳۱ و ۱۱/۸۲ سانتی متر بدست آمد که با مقدار به دست آمده در تیمار تلقیح شده با قارچکش کاربندازیم در سطح احتمال یک درصد معنی دار نمی باشد. اثر تلقیح گیاهان گوجه فرنگی با استرین های *B. thuringiensis* E13 و *B. velezensis* JPS19 و ترکیب سوسپانسیون این دو استرین نسبت به شاهد آلوده معنی دار است (شکل ۱۰).

همچنین در تلقیح ترکیبی دو استرین *B. thuringiensis* E13 و *B. velezensis* JPS19 به همراه قارچ بیمارگر میانگین وزن ریشه و وزن شاخساره به ترتیب ۱/۴۰ و ۳/۱۸ گرم نسبت به شاهد آلوده که به ترتیب ۰/۹۲ و ۱/۶۸ گرم بدست آمد که با وزن بدست آمده در تیمار تلقیح شده با قارچکش کاربندازیم در سطح احتمال یک درصد معنی دار می باشد (شکل ۱۱).



شکل ۱۰. تاثیر استرین‌های *Bacillus thuringiensis* E13 و *Bacillus velezensis* JPS19 بر طول ریشه و طول شاخساره گیاه گوجه فرنگی نسبت به شاهد. تحلیل واریانس با آزمون تعقیبی حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال یک درصد انجام گردید. حروف غیر مشترک در هر نمودار نشان دهنده اختلاف در سطح احتمال یک درصد می‌باشد ($p \leq 0.01$).



شکل ۱۱. تاثیر استرین‌های *Bacillus thuringiensis* E13 و *Bacillus velezensis* JPS19 بر وزن ریشه و وزن شاخساره گیاه گوجه فرنگی نسبت به شاهد. تحلیل واریانس با آزمون تعقیبی حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال یک درصد انجام گردید. حروف غیر مشترک در هر نمودار نشان دهنده اختلاف در سطح احتمال یک درصد می‌باشد ($p \leq 0.01$).

پیشنهادهات

مطابق نتایج به دست آمده در این مطالعه پیشنهاد می‌شود که در بررسی‌های آینده با استفاده از استرین‌های باکتری در جهت کنترل بیماری، تلقیح عامل بیماری در قسمت هوایی گیاه صورت گیرد و میزان شدت بیماری نیز محاسبه گردد و همچنین می‌توان با فرموله کردن عوامل کنترل بیولوژیک برای بقا بیشتر آن‌ها، اثرات آن‌ها را مورد بررسی و ارزیابی قرار داد. بررسی تاثیر همزمان و ترکیبی باکتری‌های *Bacillus* spp. در بازدارندگی و کنترل بیمارگر FORL در محیط‌های مختلف انجام گیرد و از طرفی دیگر به بررسی تاثیر استفاده از مقادیر مختلفی از باکتری *Bacillus* در کنترل بیماری و تعیین حداقل غلظت موثر آن برای دستیابی به افزایش عملکرد گیاهان و کاهش شدت بیماری نیز پرداخته شود. همچنین انجام آزمایشات مختلف با هدف ارزیابی اثربخشی و بررسی اثرات مختلف استفاده از باکتری *Bacillus* بر سلامت گیاه و محیط زیست، گام‌هایی موثر در توسعه راهکارهای بیولوژیک پایدار خواهند بود.

سپاسگزاری

از دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران بابت حمایت جهت اجرای این پژوهش تشکر و قدردانی به عمل می‌آید. هیچگونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد.

منابع

- اعتباریان، ح. ر. ۱۳۷۱. بررسی بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی و مبارزه شیمیایی با آن در منطقه ورامین. مجله علوم کشاورزی ایران. دوره ۳ و ۴، شماره ۴۰، ۱۳۷۱.
- سیفی، س. ۱۳۹۴. غربالگری باکتری‌های حذف کننده نیترات و نقش آن‌ها در کنترل پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی، رساله دکتری ارائه شده به دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، ۱۷۹ ص.
- فصیحیان، ع (۱۳۶۴). پیدایش بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی در استان هرمزگان. بیماری‌های گیاهی، ۲۱(۴-۱)، ۲۹-۳۲.
- منافی، ر. اهری، ب. ارزنلو، م و ولیزاده، م. ۱۳۹۱. ارزیابی ارقام رایج کشت گلخانه‌ای گوجه فرنگی در استان آذربایجان شرقی به بیماری پژمردگی فوزاریومی و بررسی امکان کنترل زیستی این بیماری. نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار، ۲۲ (۱): ۱۵۷-۱۴۷.

REFERENCES

- Ajilogba, C. F., & Babalola, O. O. (2013). Integrated management strategies for tomato *Fusarium* wilt. *Biocontrol Sci*, 18(3), 117-127. <https://doi.org/10.4265/bio.18.117>
- Aleaghaee, S., Rezaee, S., Ebadi, M., & Zamanizadeh, H. (2019). Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and induction of defensive enzyme of phenylalanine ammonialyse in tomato by *Trichoderma* and *Bacillus* antagonist isolates. *journal of microbial world*, 12(39), 125-138. <http://sanad.iau.ir/fa/Article/1056782>
- Banerjee, M., Kalloo, K., & Indu Jalali, I. J. (1990). Studies on *Fusarium* wilt resistance in *Lycopersicon*: screening and method of assessment. (1990): 167-174 .
- Bao, J., Fravel, D., O'Neill, N., Lazarovits, G., & Berkum, P. (2002). Genetic analysis of pathogenic and non-pathogenic *Fusarium oxysporum* from tomato plants. *Canadian journal of botany*, 80. <https://doi.org/10.1139/b02-004>
- Bodah, E. T. (2017). Root rot diseases in plants: a review of common causal agents and management strategies. *Agric. Res. Technol*. Open access J, 5(3), 56-63. <https://doi.org/10.19080/ARTOAJ.2017.05.555661>
- Bora, T., Özaktan, H., Göre, E., & Aslan, E. (2004). Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* by wettable powder formulations of the two strains of *Pseudomonas putida*. *Journal of phytopathology*, 152(8-9), 471-475. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2004.00877.x>
- Cakir, B., Gül, A., & Ozaktan, H. (2014). Response to *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*

- in tomato roots involves regulation of SA- and ET-responsive gene expressions. European journal of plant pathology, 139, 379-391. <https://doi.org/10.1007/s10658-014-0394-9>
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., & Barka, E. A. (2005). Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. Appl Environ Microbiol, 71(9), 4951-4959. <https://doi.org/10.1128/aem.71.9.4951-4959.2005>
- Datnoff, L. E., Nemec, S., & Pernezny, K. (1995). Biological control of *Fusarium* Crown and root rot of tomato in florida using *Trichoderma harzianum* and glomus intraradices. Biological control, 5(3), 427-431. <https://doi.org/10.1006/bcon.1995.1051>
- Frommel, M. I., Pazos, G. S., & Nowak, J. (1991). Plant-growth stimulation and biocontrol of *Fusarium* wilt (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) by co-inoculation of tomato seeds with *Serratia plymuthica* and *Pseudomonas* sp. (1991): 66-73 .
- Gullino, M., Albajes, R., & Nicot, P. (2020). Integrated pest and disease management in greenhouse crops and chame. 2020. : Springer International Publishing : Imprint: Springer, 2020. . <https://doi.org/10.1007/978-3-030-22304-5>
- Hagedorn, C., Gould, W. D., & Bardinelli, T. R. (1989). Rhizobacteria of cotton and their repression of seedling disease pathogens. Appl environ microbiol, 55(11), 2793-2797. <https://doi.org/10.1128/aem.55.11.2793-2797.1989>
- Howell, C. R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Plant dis, 87(1), 4-10. <https://doi.org/10.1094/pdis.2003.87.1.4>
- J. A. L. García, Probanza, A., Ramos, B., Palomino, M., & Francisco Javier Gutierrez Mañero. (2004). Effect of inoculation of *Bacillus licheniformis* on tomato and pepper. Agronomie, 24(4), 169-176 <https://doi.org/10.1051/agro:2004020>
- Jones, C. M., Stres, B., Rosenquist, M., & Hallin, S. (2008). Phylogenetic analysis of nitrite, nitric oxide, and nitrous oxide respiratory enzymes reveal a complex evolutionary history for denitrification. Molecular biology and evolution, 25(9), 1955-1966. <https://doi.org/10.1093/molbev/msn146>
- Kavroulakis, N., Ntougias, S., Besi, M. I., Katsou, P., Damaskinou, A., Ehaliotis, C., Zervakis, G. I., & Papadopoulou, K. K. (2010). Antagonistic bacteria of composted agro-industrial residues exhibit antibiosis against soil-borne fungal plant pathogens and protection of tomato plants from *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. Plant and soil, 333(1/2), 233-247. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0338-x>
- Khokhar, I., Haider, M. S., Ali, A., Mukhtar, I., & Mushtaq, S. (2011). Evaluation of antagonistic activity of soil bacteria against plant pathogenic fungi. Pak. J. phytopathol, 23(2), 166-169 .
- Kwon, J. W., & Kim, S. D. (2014). Characterization of an antibiotic produced by *Bacillus subtilis* JW-1 that suppresses *Ralstonia solanacearum*. J microbiol biotechnol, 24(1), 13-18. <https://doi.org/10.4014/jmb.1308.08060>
- Lertcanawanichakul, M., & Sawangnop, S. (2008). A comparison of two methods used for measuring the antagonistic activity of *Bacillus* species. Walailak journal of science and technology, 5, 161-171. <https://doi.org/10.2004/wjst.v5i2.86>
- Lucas, J., Schlöter, M., Durkaya, T., Hartmann, A., & Mañero, F. (2003). Colonization of pepper roots by a plant growth promoting *Pseudomonas fluorescens* strain. Biology and fertility of soils, 37, 381-385. <https://doi.org/10.1007/s00374-003-0608-3>
- Manzo, D., Ferriello, F., Puopolo, G., Zoina, A., D'Esposito, D., Tardella, L., Ferrarini, A., & Ercolano, M. R. (2016). *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* induces distinct transcriptome reprogramming in resistant and susceptible isogenic tomato lines. BMC plant biol,

- 16, 1-14. <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0740-5>
- Maurya, S., Dubey, S., Kumari, R., & Verma, R. (2019). Management tactics for *Fusarium* wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.): A review. *Management*, 4(5), 1-7 .
- Mazzola, M. (2002). Mechanisms of natural soil suppressiveness to soilborne diseases. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81(1), 557-564. <https://doi.org/10.1023/a:1020557523557>
- Minuto, A., Migheli, Q., & Garibaldi, A. (1995). Evaluation of antagonistic strains of *Fusarium* spp. in the biological and integrated control of *Fusarium* wilt of cyclamen. *Crop protection*, 14(3), 221-226 [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(95\)00008-A](https://doi.org/10.1016/0261-2194(95)00008-A)
- Nguyen, M., & Ranamukhaarachchi, S. (2010). Soil-borne antagonists for biological control of bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum* in tomato and pepper. *Journal of plant pathology*, 92 (2), 395-406. <https://doi.org/10.4454/jpp.v92i2.183>
- Nourozian, J., Etebarian, H. R., & Khodakaramian, G. (2006). Biological control of *Fusarium graminearum* on wheat by antagonistic bacteria. *Songklanakarin J. sci. technol*, 28(Suppl 1), 29-38 .
- Ongena, M., & Jacques, P. (2008). *Bacillus lipopeptides*: versatile weapons for plant disease biocontrol. *Trends microbiol*, 16(3), 115-125. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2007.12.009>
- Özbay, N., & Newman, S. (2004). *Fusarium* crown and root rot of tomato and control methods. *Plant Pathology Journal*, 3(1), 9-18. <https://doi.org/10.3923/ppj.2004.9.18>
- Panno, S., Davino, S., Caruso, A. G., Bertacca, S., Crnogorac, A., Mandić, A., Noris, E., & Matić, S. (2021). A review of the most common and economically important diseases that undermine the cultivation of tomato crop in the mediterranean basin. *Agronomy*, 11(11), 2188. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112188>
- Pérez-Gutiérrez, R. A., López-Ramírez, V., Islas, Á., Alcaraz, L. D., Hernández-González, I., Olivera, B. C., Santillán, M., Eguiarte, L. E., Souza, V., Trivisano, M., & Olmedo-Alvarez, G. (2013). Antagonism influences assembly of a *Bacillus* guild in a local community and is depicted as a food-chain network. *The isme journal*, 7(3), 487-497. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.119>
- Quinet, M., Angosto, T., Yuste-Lisbona, F. J., Blanchard-Gros, R., Bigot, S., Martinez, J. P., & Lutts, S. (2019). Tomato fruit development and metabolism. *Front plant sci*, 10, 1554. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01554>
- Raymond, B. (2017). The biology, ecology and taxonomy of *Bacillus thuringiensis* and related bacteria. In (pp. 19-39). https://doi.org/10.1007/978-3-319-56678-8_2
- Singh, B., Dawson, L., Macdonald, C., & Buckland, S. (2009). Impact of biotic and abiotic interaction on soil microbial communities and functions: A field study. *Applied soil ecology*, 41(3), 239-248. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2008.10.003>
- Szczuchura, W., Staniaszek, M., & Habdas, H. (2013). *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* – the Cause of *Fusarium* crown and root rot in tomato cultivation. *Journal of plant protection research*, 53. <https://doi.org/10.2478/jppr-2013-0026>
- Vaidya, R., Roy, S., Macmil, S., Gandhi, S., Vyas, P., & Chhatpar, H. S. (2003). Purification and characterization of chitinase from *alcaligenes xylosoxydans*. *Biotechnol Lett*, 25(9), 715-717. <https://doi.org/10.1023/a:1023406630791>
- Weller, D. M. (1988). Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual review of phytopathology*, 26(1), 379-407 . <https://doi.org/10.1146/annurev.py.26.090188.002115>
- Yamamoto, I., Komada, H., Kuniyasu, K., Saito, M., & Ezuka, A. (1974). A new race of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* inducing root rot of tomato. *Annual report of the kansai plant protection society*, 16(0), 17-29. https://doi.org/10.4165/KAPPS1958.16.0_17