



## Biocontrol of cucumber *Fusarium* wilt using two endophytic fungi *Fomes fomentarius* and *Coprinopsis urticicola*

Zohrab gorgani<sup>1</sup> , Jahanshir Amini<sup>2</sup> 

1. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran. Email: [Zg636@yahoo.com](mailto:Zg636@yahoo.com)
2. Corresponding author, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran. Email: [jamini@uok.ac.ir](mailto:jamini@uok.ac.ir)

Article Info	ABSTRACT
<b>Article type:</b> Research Article	Cucumber ( <i>Cucumis sativus</i> L.) is cultivated in a larger area than other pumpkin plants and it is one of most important plants of the <i>Cucurbitaceae</i> family worldwide. Fusarium wilt disease of cucumber is one of the most important diseases of this crop which caused by <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i> (FOC). The aim of this research is biological control of fusarium wilt disease of cucumber by using fungal endophytes such as <i>Fomes fomentarius</i> and <i>Coprinopsis urticicola</i> in laboratory, greenhouse and field conditions. The plant pathogenic fungal (FOC) was isolated from infected cucumber plants and was identified as <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i> based on morphological characteristics and molecular phylogenetic analysis of the <i>TEF</i> and ITS genomic regions. Both isolates <i>Fomes fomentarius</i> and <i>Coprinopsis urticicola</i> had inhibitory effects on the development of FOC growth <i>in vitro</i> by dual-culture method with inhibition percentage ranging from 71.81% to 66.81%, respectively. Volatile antifungal effects were observed for <i>Fomes fomentarius</i> isolate with 66.21% inhibition, followed by the isolate <i>Coprinopsis urticicola</i> (61.33%). Both isolates of biocontrol fungi were able to reduce the disease severity by 76-88% and 76-82% in greenhouse and field conditions, respectively. In addition, the effect of the biocontrol isolates on the cucumber growth parameters such as the number of main stems, plant height (cm), root fresh and dry weight (gr) were recorded and the results were shown that the treated plants had a significant increase in growth and production compared to the control.
<b>Article history:</b> Received: 11 December 2025 Revised: 29 December 2025 Accepted: 30 December 2025 Published online: Autumn and Winter 2025	
<b>Keywords:</b> <i>Biological control, Coprinopsis urticicola, cucumber, Fomes fomentarius, Fusarium wilt disease.</i>	

**Cite this article:** Taheri, A., Lotfalinezhad, E., Sanei, S. J. & Shahrabadi, Z. (2025). Biocontrol of cucumber Fusarium wilt using two endophytic fungi *Fomes fomentarius* and *Coprinopsis urticicola*. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 56 (1), 233-249. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2026.409931.1007108>



© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2026.409931.1007108>

### Extended Abstract

#### Introduction

Cucumber (*Cucumis sativus* L.) is one of the most important vegetables in the world. Cucumber Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* (FOC), is one of the most typical soil-borne fungal pathogens that leads to reduced cucumber production. The symptoms of Fusarium wilt appear as stunting and wilting of the leaves, dark brown discoloration of the roots and necrosis of basal stem. Traditional management methods, including the use of crop protection, resistant cultivars and chemical fungals, have been suggested to control Fusarium wilt, but these methods are not economical, reliable or environmentally friendly (Meldrum *et al.*, 2013., Nel *et al.*, 2007). Other methods are investigated, including the use of biocontrol agents. Biocontrol of Fusarium wilt by means of different microorganisms could be used as an effective and sustainable approach to control Fusarium wilts (Lu shi *et al.*, 2017). In this research, two endophytic fungal species (*Fomes fomentarius* and *Coprinopsis urticicola*) isolated from wheat plant, were evaluated against FOC *in vitro*, greenhouse and field conditions.

#### Materials and methods

The pathogenic fungal (FOC) was isolated from cucumber plants, cultured on PDA medium and purified for next experimental use. The pathogen was identified using morphology and molecular phylogenetic analysis. Pathogenicity test

of pathogen was demonstrated on cucumber cv 2N NADA. Fungal endophytes were obtained from the plant pathology collection of University of Kurdistan. Antagonistic activity against the pathogen was evaluated through *in vitro* dual culture and volatile metabolite assays in a completely randomized design with five replications. For greenhouse and field experiments, Pathogen and fungal endophytes inoculum was prepared on sterilized wheat and incubated for 4 weeks. The cucumber cultivar 2N NADA susceptible to Fusarium wilt caused by FOC was planted in sterilized soil inoculated with pathogen and endophytes (30 g/kg soil) in greenhouse and field conditions. After 60 days of co-inoculation with biocontrol agents and pathogen, the severity disease was indexed and plant growth parameters of the cucumber were evaluated. Experiments were designed in a completely randomized design (with five replications and 6 treatments) in greenhouse conditions and a completely randomized block design (three replications and six treatments, three plots and each plot including five plants) in field conditions. Data were statistically analysed by standard analysis of variance (ANOVA) using SAS software (Version 8.2; SAS Institute, Cary, NC, USA, 2013). Differences among different treatments were analysed using Duncan's Multiple Range Test (DMRT) at  $P \leq 0.05$ .

## Results and Discussion

The results of this research showed that two endophytes were highly capable of inhibition the mycelial colony growth of FOC with inhibition over 67% and 61% respectively by dual culture and volatile metabolite assays as compared to untreated control treatments after 7 days of inoculation. In greenhouse conditions, both endophytes *Fomes fomentarius* and *Coprinopsis urticicola* were reduced disease severity 88.35% and 76.67% respectively. Also, these endophytes were reduced disease severity in field conditions over 77%. The results of the greenhouse and field studies showed that both endophyte improved plant growth parameters. Several biocontrol agents such as *Bacillus*, nonpathogenic *Fusarium*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Neurospora*, *Eupenicillium* and *Hypocrea* strains were evaluated to control Fusarium wilt and reduced disease severity of cucumber wilt (Raza *et al.*, 2017; Vos *et al.*, 2014; Manzoor *et al.*, 2019). Also, *Trichoderma* sp. and *Beauveria* sp. effectively reduced wilt disease and increased the plant fresh weight and seedling growth in tomato plants. Two selected fungal endophytes *Fomes fomentarius* and *Coprinopsis urticicola* showed *in vitro* antifungal activity against *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* by dual culture assay on PDA medium with 39.1% and 43.6% inhibition, respectively. The isolate *C. urticicola* caused maximum inhibition of take-all disease (89.8%) and reduced disease severity significantly ( $P \leq 0.05$ ) in comparison with the inoculated control (Gholami *et al.*, 2019). Also, *C. urticicola* isolate produced siderophore, protease, pectinase, IAA, and gibberellin *in vitro* (Gholami *et al.*, 2019). Microscopic observation of morphology of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* hyphae revealed that *C. urticicola* isolate suppressed the mycelia growth and caused change in morphology of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* so that it may be correlated with production metabolites or lytic enzymes such as protease and pectinase that caused abnormalities hyphae morphology (Prapagdee *et al.*, 2008; Gholami *et al.*, 2019).

## Conclusion

Several endophytic fungal species are now successfully evaluated as biocontrol agents against plant pathogenic fungi as well as for plant growth promotion. The results of this research showed that *Fomes fomentarius* and *Coprinopsis urticicola* were capable of inhibiting more than 61, 76.6 and 76.7 percent of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* in *in vitro*, greenhouse and field conditions. In addition, these endophytes were improved cucumber plant growth in greenhouse and field conditions. These strains can be used as a safe and suitable alternative to chemical fungicides in controlling Cucumber Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. To our best knowledge, this is the first report showing the antifungal activity of *Fomes fomentarius* and *Coprinopsis urticicola* against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* and its efficacy for reducing disease severity and increasing yield under greenhouse and field conditions.

## Author contribution

All authors contributed equally to the conceptualization of the article and writing of the original and subsequent drafts.

## Data availability

The data will be made available on request.

## Acknowledgement

This research was supported by the Plant Protection Department of University of Kurdistan. We thank university of Kurdistan for providing research facility and support.

## Ethical consideration

The study was conducted on plant-pathogen fungus and beneficial entophytic fungi that are abundant in the environment and do not require ethical approval.

## Conflict of interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

## مهار زیستی پژمردگی فوزاریومی خیار با استفاده از دو قارچ اندوفیت *Coprinospsis Fomes fomentarius* و *urticicola*

ظهراب گرگانی<sup>۱</sup> | جهانشیر امینی<sup>۲</sup> ✉

۱. گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران. رایانامه: [Zg636@yahoo.com](mailto:Zg636@yahoo.com)  
۲. نویسنده مسئول، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران. رایانامه: [jamini@uok.ac.ir](mailto:jamini@uok.ac.ir)

اطلاعات مقاله	چکیده
<b>نوع مقاله:</b> مقاله پژوهشی	خیار ( <i>Cucumis sativus</i> L.) نسبت به گیاهان دیگر تیره کدوئیان در سطح وسیع‌تری کشت و از مهمترین سبزیجات در جهان محسوب می‌شود. بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار به عنوان یکی از بیماری‌های مهم این محصول است و توسط قارچ <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cucumerinum</i> (FOC) ایجاد می‌گردد. هدف از انجام این تحقیق مهار زیستی بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار با استفاده از اندوفیت‌های قارچی <i>Coprinospsis urticicola</i> و <i>Fomes fomentarius</i> در شرایط آزمایشگاه، گلخانه و مزرعه است. قارچ عامل بیماری از بوته‌های گیاهان خیار آلوده جداسازی و بر اساس صفات ریخت شناسی و مولکولی با استفاده از نواحی ژنومی <i>TEF</i> و <i>ITS</i> شناسایی گردید. هر دو قارچ اندوفیت <i>Fomes fomentarius</i> و <i>Coprinospsis urticicola</i> در روش کشت متقابل به میزان ۷۱٫۸۱ و ۶۶٫۸۱ درصد بترتیب از رشد پرگنه قارچ بیمارگر جلوگیری کردند. ترکیبات فرار ضد قارچی دو جدایه <i>Fomes fomentarius</i> به میزان ۶۶٫۲۱ درصد و <i>Coprinospsis urticicola</i> به مقدار ۶۱٫۳۳ درصد از رشد پرگنه قارچ بیمارگر ممانعت کردند. دو جدایه قارچ اندوفیت شدت بیماری پژمردگی خیار را در شرایط گلخانه و مزرعه بترتیب به میزان ۷۶-۸۸ و ۷۶-۸۲ درصد در مقایسه با تیمار کنترل کاهش دادند. به علاوه هر دو جدایه اندوفیت شاخص‌های رشد گیاه خیار را مثل تعداد ساقه‌های اصلی، ارتفاع گیاه و وزن تر و خشک ریشه گیاه را به میزان قابل توجهی در مقایسه با تیمار شاهد افزایش دادند.
<b>تاریخ دریافت:</b> ۱۴۰۴/۰۹/۲۰ <b>تاریخ بازنگری:</b> ۱۴۰۴/۱۰/۰۸ <b>تاریخ پذیرش:</b> ۱۴۰۴/۱۰/۰۹ <b>تاریخ انتشار:</b> پاییز و زمستان ۱۴۰۴	
<b>کلیدواژه‌ها:</b> بیماری پژمردگی فوزاریومی، کنترل زیستی، <i>Coprinospsis Fomes urticicola</i> و <i>fomentarius</i>	

**استناد:** گرگانی، ظهراب و امینی، جهانشیر (۱۴۰۴). مهار زیستی پژمردگی فوزاریومی خیار با استفاده از دو قارچ اندوفیت *Coprinospsis urticicola* و *Fomes fomentarius*. نشریه دانش گیاهپزشکی ایران، ۵۶ (۱)، ۲۳۳-۲۴۹. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2026.409931.1007108>



© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2026.409931.1007108>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

## مقدمه

خيار از مهمترين سبزیجات در جهان است و در اثر تعداد زيادى از بيماريهائى قارچى مثل پژمردگى، کپک خاکسترى، بوته ميرى‌ها، آنتراکنوز و سوختگى برگها بترتيب توسط *Fusarium oxysporum*، *Botrytis cinerea*، *Phytophthora* spp. و *Colletotrichum* sp. مورد خسارت قرار مى‌گيرد.

بيمارى پژمردگى فوزاريومى ناشى از قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* (FOC) يکى از بيماريهائى مهم خيار و کدويان است که هر ساله خسارت قابل توجهى به اين محصول از نظر کمى و کيفى وارد مى‌کند (Cai et al., 2024; Martinez et al., 2003; Etebaian, 2012; Pavlou and Vakalounakis, 2005) و در خيلى از کشورها گزارش شده و هر ساله به طور متوسط تا ۴۵ درصد به محصولات کدويان خسارت وارد مى‌کند (McGovern, 2015). در ايران نيز اين بيمارى در سالهائى ۱۳۸۰-۱۳۸۱ در گلخانه‌هائى ورامين مشاهده و گزارش شد و در حال حاضر به عنوان يکى از مهمترين بيماريهائى گلخانه‌اى محسوب مى‌شود و بر اساس مشاهدات و بررسى‌هائى انجام شده بيمارى در ايران به طور معمول بين ۶۰-۲۰ درصد خسارت وارد مى‌کند (Shahriyari et al., 2006).

عامل بيمارى از طريق سيستم ريشه وارد گياه شده و سبب پوسيدگى ريشه، طوقه و علايم زردى، پژمردگى و کوتولگى در گياهان آلوده مى‌شود (Tjamos and Beckman, 1989; Lim et al., 2006). مديريت بيمارى به دليل خاکزى بودن قارچ عامل بيمارى و نفوذ آن به بافت پارانشيم ريشه و ساقه و ماندگارى آن در خاک توسط فرم مقاوم کلاميدوسپور مشکل است. روشهائى سنتى مديريت بيمارى مثل روشهائى زراعى شامل استفاده از ارقام مقاوم، تناوب زراعى و روشهائى شيميايى در منابع مختلف پيشنهاده شده است، اما اين روشها اغلب اقتصادى و کارآمد نبوده و با حضور نژادهائى جديد قارچ بيمارگر مقاومت شکسته شده و کاربرد قارچکشها نيز خسارت زيست محيطى به همراه مى‌آورند (Yang et al., 2019; Do, 2022; Vethavalli and Sudha, 2012; Meldrum et al., 2013; Reis et al., 2005). امروزه استفاده از عوامل کنترل زيستى در مديريت بيماريهائى گياهان در جهت پايدارى محيط زيست در جهان يک ضرورت است. بنابر اين استفاده از عوامل کنترل زيستى مثل اندوفيت‌هائى قارچها و باکترىها بعنوان يک راهکار ايمن و مفيد مى‌تواند جايگزين قارچکش‌هائى شيميايى گردد. اندوفيت‌ها قادرند که شدت بيماريهائى گياهان را با مکانيسم‌هائى مختلف کاهش و پيشروى بيمارگر را در داخل بافت‌هائى گياهان مثل آوند ها محدود نمايند (Alabouvette et al., 1993; Lu et al., 2016; Patel et al., 2012). چندين استرئين از عوامل کنترل زيستى مثل *Bacillus*، *Trichoderma*، *Pseudomonas*، *nonpathogenic Fusarium* و *Penicillium* روى بيمارى پژمردگى کدويان مورد ارزيابى قرار گرفت و اين عوامل توانستند تا حدودى شدت بيمارى را کاهش دهند (Raza et al., 2017; Vos et al., 2014). اکتينوميسست *Streptomyces albospinus* CT205 به عنوان عامل کنترل زيستى پژمردگى فوزاريومى کدويان بررسى گرديد و نتايج نشان داد که شدت بيمارى پژمردگى فوزاريومى کدويان در اثر اين عامل کاهش مى‌يابد (Wang et al., 2016). دو استرئين SV101 و SV104 باکترى *Bacillus* sp. توانستند شدت بيمارى پژمردگى فوزاريومى گياه گوجه فرنگى را به شدت کاهش دهند (Abdallah et al., 2016). تحقيقات Wang et al. (2023) نشان داد که قارچ اندوفيت *Trichoderma asperellum* FJ035 قادر است جوانه زنى اسپور قارچ عامل بيمارى پژمردگى خيار را به ميزان قابل توجهى کاهش و جوانه زنى بذر خيار را نيز بهبود دهد. بعلاوه، اجتماع ميكروبي منطقه ريزوسفر گياهان نقش بسيار حياتى در تامين سلامت گياهان داشته و براى فعاليت بيمارگرهائى گياهان در محيط ريشه گياه محدوديت ايجاد مى‌کنند (Palmieri et al., 2016; Abro et al., 2019; Safara et al., 2022; Yang et al., 2024). تحقيقات سالهائى اخير نيز ظرفيت قارچهائى اندوفيت در کنترل زيستى عوامل بيماريزاى گياهان را بخوبى نشان داده است (Wang et al., 2023; Redman et al., 2022; Gholami et al., 2019; Reza et al., 2017). قارچهائى اندوفيت *Penicillium* sp. و *Hypocrea* sp. در شرايط آزمايشگاه و گلخانه شدت بيمارى پژمردگى فوزاريومى خيار را بيش از ۶۶ درصد در مقايسه با تيمار کنترل کاهش دادند (Abro et al., 2019). همچنين باکترى *Paenibacillus polymyxa* NSY50 علاوه بر کاهش شدت بيمارى پژمردگى فوزاريومى خيار، شاخص‌هائى رشدى خيار را نيز بهبود و افزايش

داد (Lu shi et al., 2017). قارچ اندوفیت *Trichoderma asperellum* از طریق مکانیسم تحریک مقاومت گیاه خیار توانست شدت بیماری پژمردگی فوزاریوم خیار را کاهش و همچنین فاکتورهای رشدی خیار را نیز افزایش دهد (Wang et al., 2023). دو قارچ اندوفیت *Coprinosps urticicola* و *Fomes fomentarius* از گیاهان غلات سالم در مرحله گلدهی جداسازی و تاثیر قابل توجهی روی کاهش رشد قارچ *Gaeumannomyces graminis var. tritici* عامل بیماری پاخوره گندم در شرایط آزمایشگاه و گلخانه داشتند (Gholami et al., 2019).

این پژوهش با هدف بررسی کارایی تاثیر دو اندوفیت قارچی *Coprinosps urticicola* و *Fomes fomentarius* روی کنترل زیستی بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار در شرایط آزمایشگاه، گلخانه و مزرعه و همچنین تاثیر آنها روی شاخص‌های رشدی گیاه خیار در شرایط گلخانه بررسی گردید. تاثیر این دو قارچ روی بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار برای اولین بار در دنیا انجام می‌شود.

## روش شناسی پژوهش

### جداسازی و شناسایی قارچ بیمارگر

در تیر ماه سال ۱۴۰۰ از مزارع خیار شهرستان کامیاران در استان کردستان بازدید و نمونه برداری از بوته‌های که علائم زردی، پژمردگی و نکروز و پوسیدگی روی طوقه و ریشه نشان دادند انجام شد. قطعات ریشه و طوقه بعد از شستشو با آب معمولی و حذف گل و لای روی آنها با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی گردید و بعد از سه بار شستشو با آب مقطر سترون با کاغذ صافی سترون خشک و روی محیط کشت PDA کشت شدند. نمونه‌ها در دمای  $25-27^{\circ}\text{C}$  در داخل انکوباتور نگهداری گردید. بعد از ۶۰ ساعت، در صورت مشاهده رشد قارچ در اطراف قطعات کشت شده از خارجی‌ترین قسمت پرگنه قارچ، با اسکالپل سترون مقداری از پرگنه قارچ به همراه محیط کشت برداشته و دوباره در پتری‌دیش حاوی محیط غذایی PDA کشت گردید. سرانجام جدایه قارچ بیمارگر با روش تک اسپور و تک هیف خالص سازی گردید.

### تهیه مایه تلقیح قارچ بیمارگر

برای تهیه مایه تلقیح قارچ بیمارگر، ۲۰۰ گرم بذر گندم را داخل شیشه کشت بافت به مدت ۸ ساعت در آب مقطر خیسانده و دوباره به فاصله ۲۴ ساعت در دمای  $121^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۵ دقیقه در داخل اتوکلاو سترون گردید. بعد از سرد شدن نمونه در شرایط سترون در زیر هود از حاشیه کشت خالص جدایه قارچ عامل بیماری، پنج پلاگ پنج میلیمتری از پرگنه قارچ هفت روزه برداشته و داخل شیشه‌های حاوی بذر گندم سترون اضافه شد. نمونه‌ها پس از هم زدن در داخل انکوباتور در دمای  $20^{\circ}\text{C} \pm$  به مدت ۲۱ روز نگهداری شد.

### آزمون بیماری‌زایی قارچ بیمارگر

به منظور بیماری‌زایی قارچ بیمارگر، بذر خیار رقم 2N NADA به مدت یک دقیقه با هیپوکلرید سدیم نیم درصد ضدعفونی و پس از شستشو با آب مقطر سترون در گلدان‌های حاوی خاک اتوکلاو شده (مخلوط خاک زراعی، شن و پیت ماس به نسبت ۳:۱:۱) کشت گردید. مایه تلقیح قارچ بیمارگر به نسبت سه درصد وزنی (۳۰ گرم در کیلوگرم خاک) قبل از کاشت بذر خیار به گلدانها اضافه و با خاک گلدان مخلوط شد. برای تیمار شاهد نیز از بذر گندم استریل استفاده شد. گلدانها در شرایط گلخانه در دمای  $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$  و رطوبت نسبی ۷۰ درصد و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. دو ماه بعد از تلقیح گلدانها توسط قارچ عامل بیماری و ظهور علائم بیماری، اندکس بیماری بر اساس شاخص ۴-۰ به روش زیر اندازه گیری شد (Abro et al., 2019). سرانجام شدت بیماری پژمردگی فوزاریومی بر اساس فرمول زیر محاسبه شد. بعد از پایان آزمایش دوباره قارچ بیمارگر از بوته‌های آلوده که علائم بیماری نشان دادند جداسازی گردید.

- ۰ = بدون علائم پژمردگی (برگهای سالم)  
 ۱ = ۲۵٪ < برگها علائم زردی و پژمردگی و نکروز نشان می دهند  
 ۲ = ۲۶-۵۰ درصد برگها علائم زردی، پژمردگی و نکروز نشان می دهند  
 ۳ = ۵۱-۷۵ درصد برگها علائم زردی، پژمردگی و نکروز نشان می دهند  
 ۴ = ۷۶-۱۰۰ درصد برگها علائم زردی، پژمردگی و نکروز نشان می دهند

$$\text{شدت بیماری} = \frac{\text{نسبت سطح برگهای آلوده}}{\text{به کل سطح برگها}} \times 100$$

### شناسایی قارچ بیمارگر

شناسایی قارچ بیمارگر بر اساس خصوصیات کشت، مشخصات مرفولوژیکی قارچ مثل رنگ و شکل کلنی قارچ، فرم و ابعاد ماکروکنیدی، میکروکنیدی، کلامیدوسور و فیالید قارچ انجام گرفت (Nelson *et al.*, 1983; Leslie and Summerell, 2006; Gerelach and Nirenberg, 1982).

جهت شناسایی مولکولی قارچ عامل بیماری، جدایه قارچ بیمارگر روی محیط غذایی PDA کشت گردید و به مدت ۱۰ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری گردید. سپس استخراج DNA قارچ با استفاده از روش Raeder and Broda (1985) در ۵۰۰ میکرولیتر بافر (۱۰۰mM Tris-HCL pH 8, 1.4 M NaCl, 20mM EDTA pH 8, CTAB 5%) انجام گردید. بعد از آن کمیت و کیفیت DNA بدست آمده با روش اسپکتروفتومتری بررسی شد. در این تحقیق بخش‌های از دو ناحیه ژنومی شامل TEF-1 $\alpha$  (با طول تقریبی ۷۰۰ جفت باز) و ITS-rDNA (با طول تقریبی ۵۵۰ جفت باز) از جدایه منتخب تکثیر شد. تکثیر و توالی‌یابی ژن TEF-1 $\alpha$  با استفاده از آغازگرهای (EF1(ATGGGTAAGGAGGACAAGAC-3') به عنوان رفت (forward) و (O' Donnell *et al.* 1998; Geiser *et al.*, 2004) EF2(5'-GGAAGTACCAGTGATCATGTT-3') به عنوان برگشت (reverse) تکثیر و تعیین توالی شد (O' Donnell *et al.*, 1998; Geiser *et al.*, 2004). علاوه بر این تکثیر و توالی‌یابی ناحیه ژنی ITS-rDNA با استفاده از آغازگرهای ITS1(5'TCCGTTAGTTGGACCTGCGG3') به عنوان رفت و ITS4(5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3') به عنوان برگشت تکثیر و تعیین توالی گردید (White *et al.*, 1990).

شرایط PCR برای تکثیر ژن ITS در دستگاه ترموسایکلر با ۳۷ چرخه در شرایط واسرشت اولیه در دمای ۹۵°C به مدت ۵ دقیقه، اتصال آغازگر در دمای ۵۲°C به مدت ۳۰ ثانیه، بسط در دمای ۷۲°C به مدت ۹۰ ثانیه و بسط نهایی در دمای ۷۲°C به مدت ۸ دقیقه انجام شد. همچنین شرایط PCR برای تکثیر ژن TEF-1 $\alpha$  در دستگاه ترموسایکلر با ۳۷ چرخه در شرایط واسرشت اولیه در دمای ۹۴°C به مدت ۴ دقیقه، اتصال آغازگر در دمای ۵۲°C درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۵ ثانیه، بسط در دمای ۷۲°C به مدت ۲ دقیقه و بسط نهایی در دمای ۷۲°C به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. ارزیابی محصول PCR با استفاده از ژل آگارز یک درصد با بافر TBE IX در یک میدان الکتریکی با ولتاژ ۷۰ ولت به مدت ۸۰ دقیقه در دستگاه الکتروفوروز انجام شد. خالص سازی و تعیین توالی توسط انستیتو ژنومیکس بیجینگ صورت گرفت. توالی‌های بدست آمده از ناحیه ITS-rDNA و ناحیه TEF-1 $\alpha$  در بانک ژن بترتیب با کد دسترسی PX624074 و PX653170 با توالی‌های موجود در بانک ژن مورد مقایسه قرار گرفت.

هم‌ردیف کردن توالی‌های مورد مطالعه با توالی‌های انتخاب شده از بانک ژن با استفاده از نرم‌افزار MAFFT v. 7 (Katoh & Standley, 2013) انجام شد. در صورت نیاز هم‌ردیف کردن و ویرایش توالی‌ها بصورت دستی هم با نرم‌افزار BioEdit (Hall, 1999) Sequence Alignment Editor v. 7.2.5 انجام شد. توالی‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار BLAST (Biological Local Alignment Search Tool) با توالی‌های موجود در بانک ژن و پایگاه اطلاعاتی FUSARIUM-ID (<http://isolate.Fusariumdb.org>) مقایسه گردید (Geiser *et al.*, 2004; O'Donnell *et al.*, 2012).

ترسیم درخت‌های فیلوژنتیکی به روش Maximum-Parsimony به وسیله نرم‌افزار PAUP v. 4.0b10 انجام شد (Swofford, 2002). درخت‌های حاصل از بررسی‌های فیلوژنتیکی با نرم‌افزار FigTree v. 1.4.4 مشاهده و در نهایت درخت‌های به‌دست آمده به‌وسیله نرم‌افزار Adobe Illustrator 2019 ویرایش و تهیه گردید. اعتبار شاخه‌ها توسط اعتبارسنجی (Bootstrap) در ۱۰۰۰ تکرار انجام شد. گونه *Nectria cinnabarina* به عنوان آرایه گروه خارجی (outgroup) به دلیل نزدیکترین گروه خارجی به جنس فوزاریوم انتخاب گردید (Shahbazi et al., 2021). سرانجام نتایج ریخت‌شناسی و مولکولی مورد ارزیابی قرار گرفت.

### تعیین دامنه میزبانی و فرم اختصاصی قارچ *Fusarium oxysporum*

جهت بررسی فرم اختصاصی و تعیین دامنه میزبانی قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* گیاهانی از شش خانواده شامل گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.) رقم *Beli-nalive*، گندم (*Triticum aestivum* L.) رقم سرداری، لوبیا چشم بلبلی (*Phaseolus vulgaris* L.)، نخود ایرانی (*Cicer arietinum* L.) رقم *کاکا*، ریحان (*Ocimum basilicum* L.) رقم *سبز*، تاج خروس معمولی (*Amaranthus retroflexus* L.) و خیار (*Cucumis sativum* L.) رقم *2N* NADA انتخاب شدند. بذر این گیاهان پس از ضدعفونی با هیپوکلرید سدیم نیم درصد به مدت یک دقیقه و شستشو در آب مقطر استریل در خاک سترون آلوده به قارچ بیمارگر به روش قبلی کشت و بعد از دو ماه شدت بیماری فوزاریوم کدویان روی آنها ارزیابی شد (Kistler, 2001).

### قارچ اندوفیت و تهیه مایه تلقیح

دو قارچ اندوفیت انتخابی شامل قارچ‌های *F. fomentarius* و *C. urticola* (GenBank Acc. No: MH300615) از کلکسیون قارچ‌های آزمایشگاه کنترل بیولوژیک گروه بیماری‌شناسی دانشگاه کردستان تهیه گردید. هر دو قارچ آنتاگونیست روی محیط‌های کشت PDA دوباره تجدید کشت گردید و برای آزمایشات بعدی استفاده گردید. جهت تهیه مایه تلقیح دو قارچ اندوفیت، مقدار ۲۰۰ گرم بذر گندم در داخل ارلن ۵۰۰ میلی لیتری ریخته و به مدت ۱۰ ساعت در آب مقطر خیسانده شد و دوبار به فاصله ۲۴ ساعت در دمای ۱۲۱°C به مدت ۱۵ دقیقه در داخل اتوکلاو سترون گردید. بعد از سرد شدن نمونه‌ها، در شرایط سترون در زیر هود از حاشیه کشت خالص جدایه قارچ اندوفیت، پنج پلاگ پنج میلیمتری از پرگنه هفت روزه قارچ اندوفیت برداشته و داخل هر ارلن حاوی بذر گندم سترون اضافه شد. نمونه‌ها پس از هم زدن در داخل انکوباتور در تاریکی و در دمای ۲۰ ± ۲°C به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند. به منظور رشد یکنواخت پرگنه قارچ در کل ارلن، هر پنج روز یکبار نمونه‌ها را تکان داده تا مایه قارچ با بذور گندم داخل ارلن مخلوط گردد.

### تأثیر اندوفیت‌های قارچی روی پرگنه قارچ بیمارگر با روش کشت متقابل

تأثیر بازدارندگی آنتاگونیست‌های انتخابی (*F. fomentarius* و *C. urticola*) بر رشد پرگنه قارچ بیمارگر از طریق آزمون کشت متقابل با پنج تکرار مورد آزمایش و بررسی قرار گرفت. برای این منظور قرص نیم‌سانتیمتری از پرگنه قارچ هفت روزه را در ظرف‌های پتری ۱۰ سانتی‌متری حاوی محیط PDA و با فاصله یک سانتی‌متری از لبه ظرف پتری قرار داده شد و در نقطه مقابل آن نیز پلاگ نیم سانتیمتری قارچ‌های اندوفیت هم در شرایط سترون زیر هود بیولوژیک قرار داده شد. کلیه ظروف پتری دیش در دستگاه انکوباتور در تاریکی و در دمای ۲۰ ± ۲°C قرار داده شد (Dennis & Webster, 1971). بعد از هفت روز قطر پرگنه قارچ پاتوژن اندازه‌گیری شد. در تیمار شاهد به جای دیسک قارچ آنتاگونیست از یک دیسک محیط کشت PDA (بدون پاتوژن) استفاده گردید. سرانجام از طریق فرمول زیر میزان درصد بازدارندگی رشد پرگنه قارچ بیمارگر محاسبه گردید. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام و برای هر تیمار پنج تکرار در نظر گرفته شد.

$$GI = \frac{C - T}{C} \times 100$$

GI : میزان درصد بازدارندگی

C : قطر پرگنه قارچ در تیمار شاهد

T : قطر پرگنه قارچ در تیمار اندوفیت

### تأثیر متابولیت های فرار اندوفیت های قارچی روی پرگنه قارچ بیمارگر

برای این منظور پلاگ نیم سانتیمتری از قارچ هفت روزه قارچ بیمارگر را در مرکز ظرف های پتری ۱۰ سانتی متری حاوی محیط PDA قرار داده شد و همچنین در یک ظرف پتری دیگر حاوی محیط کشت PDA قرص نیم سانتیمتری قارچ آنتاگونیست قرار داده شد. و بعد دو ظرف پتری در مقابل هم قرار داده شد، بطوریکه پتری حاوی اندوفیت در بالا قرار گرفت و اطراف دو پتری را با پارافیلیم (دو لایه) مسدود شد تا از خروج هر نوع متابولیت فرار به خارج جلوگیری شود. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام و برای هر تیمار پنج تکرار در نظر گرفته شد. پتری دیش ها در انکوباتور در دمای  $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ، رطوبت نسبی ۶۵ درصد و شرایط تاریکی قرار داده شد (Dennis & Webster, 1971). سرانجام بعد از هفت روز میزان قطر پرگنه قارچ پاتوژن با استفاده از خط کش اندازه گیری و از طریق فرمول بالا میزان درصد بازدارندگی مانند کشت متقابل محاسبه گردید.

### تأثیر اندوفیت های قارچی روی شدت بیماری پژمردگی فوزاریومی کدویان در شرایط گلخانه

بذر خیار رقم 2N NADA حساس به پژمردگی فوزاریومی خیار را با هیپوکلیت سدیم ۰٫۵ درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی و پس از شستشو با آب مقطر سترون در سینی نشاء کشت گردید. نشاهای سبز شده در مرحله ۳-۲ برگی به گلدهی یک لیتری حاوی خاک سترون منتقل شدند. قبل از انتقال بوته های خیار به گلدهی، به خاک هر گلدهی مایه تلقیح قارچ های اندوفیت به نسبت سه درصد وزنی (۳۰ گرم در کیلوگرم خاک) اضافه و با خاک داخل گلدهی کاملاً مخلوط گردید. در مرحله ۶-۴ برگی گیاهچه ها، مایه تلقیح قارچ بیمارگر به نسبت سه درصد وزنی (۳۰ گرم در کیلوگرم خاک) به اطراف ریشه بوته های خیار و سطح بالایی گلدهی اضافه گردید. به تیمار شاهد فقط بذر سترون گندم اضافه شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار و پنج تکرار (گلدهی) انجام شد. سرانجام ۳۰ روز پس از تلقیح مایه بیمارگر به گلدهی، ارزیابی شدت بیماری مشابه قسمت بیماریزایی بیمارگر انجام گرفت (Abro et al., 2019). سپس در پایان آزمایش پارامترهای رشدی گیاه (تعداد ساقه اصلی منشعب از ساقه مرکزی، ارتفاع ساقه، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه) اندازه گیری شد. جهت اندازه گیری وزن خشک ریشه گیاه، ریشه گیاه را با آب معمولی شستشو داده و بعد از آن با کاغذ صافی سترون آب آن گرفته شد. سپس نمونه ها را در داخل آون در دمای  $65^{\circ}\text{C}$  به مدت ۷۲ ساعت خشک و سرانجام توزین گردید.

### تأثیر اندوفیت های قارچی روی شدت بیماری پژمردگی فوزاریومی کدویان در شرایط مزرعه

در آزمایش مزرعه نیز مشابه روش گلخانه نشاهای خیار در خاک مزرعه آلوده به قارچ اندوفیت کشت و در مرحله ۴-۶ برگی خیار مایه تلقیح قارچ بیمارگر به اطراف ریشه نشاها اضافه گردید. آزمایش در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با ۶ تیمار و ۳ تکرار (تعداد ۱۵ بوته در هر کرت) مورد بررسی قرار گرفت. بعد از یکماه از تلقیح قارچ بیمارگر شدت بیماری فوزاریومی خیار اندازه گیری شد (Abro et al., 2019).

### تجزیه و تحلیل آماری داده ها

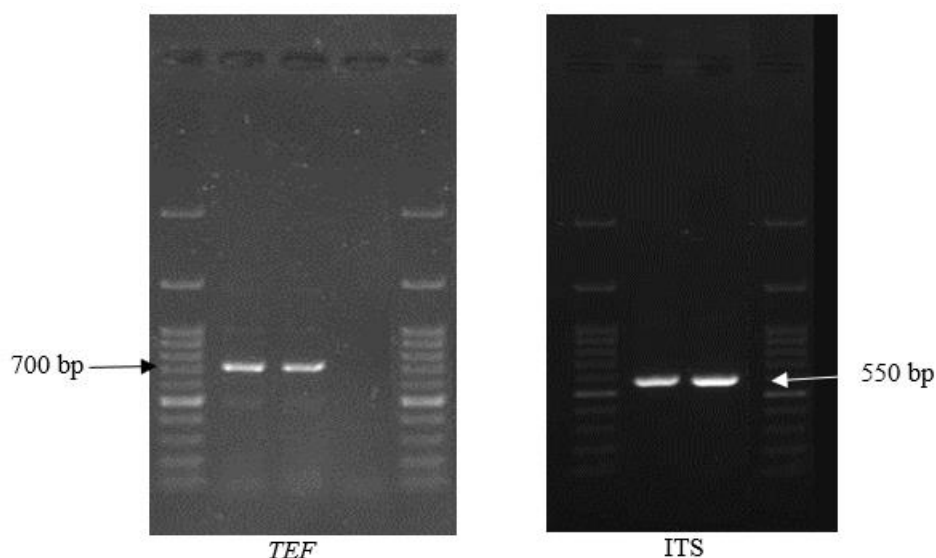
کلیه آزمایشات در شرایط آزمایشگاه و گلخانه در قالب طرح کاملا تصادفی و در مزرعه در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام گردید. تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین‌ها با نرم‌افزار SAS (software (version 9.4; SAS Institute, Cary, NC, USA, 2013) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال  $p \leq 0.05$  انجام گرفت.

## یافته‌های پژوهشی

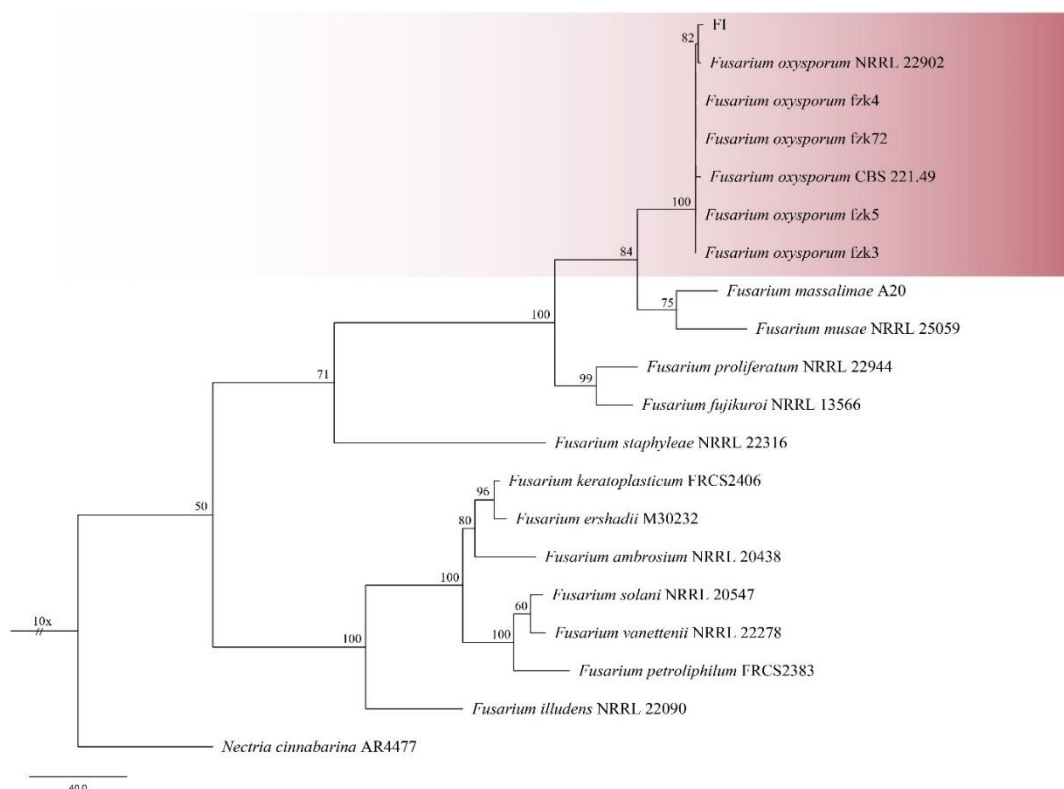
### شناسایی قارچ بیمارگر

جدایه قارچ عامل بیمارگر بر اساس خصوصیات ریخت شناسی و مولکولی به عنوان *Fusarium oxysporum* شناسایی گردید. سطح زیرین پرگنه قارچ به رنگ سفید تا بنفش تیره متغیر بود. میزان رشد پرگنه قارچ روی محیط کشت PDA بعد از ده روز در دمای  $26 \pm 2$  سلسیوس ۷,۸-۸,۳ سانتی متر بود. سطح روی پرگنه قارچ پنبه ای، به رنگ سفید تا سفید مایل به بنفش بود. کنیدیوفور قارچ به فرم منوفیالید کوتاه و ابعاد آن به طول  $4/2$  تا  $11/4$  میکرون بود. میکروکنیدی تک سلولی و بیضی شکل تا تخم مرغی و ابعاد میکروکنیدی بطور میانگین  $8/8 \times 3/6$  میکرومتر بود. ماکروکنیدی‌ها داسی شکل دارای دو سر خمیده، سه تا پنج دیواره عرضی دارند. ابعاد ماکرو کنیدی‌ها متغییر و میانگین ابعاد آنها  $18/4 \times 37/4$  میکرون بود. مشخصات این جدایه با گونه قارچ *Fusarium oxysporum* مطابقت داشت (Gerlach & Nirenberg, 1982; Nelson *et al.*, 1983; Leslie & Summerell, 2006).

در بررسی‌های مولکولی، باندهای تشکیل شده در ناحیه ITS (با طول تقریبی ۵۵۰ جفت باز) و ناحیه TEF (با طول تقریبی ۷۰۰ جفت باز) روی ژل آگارز نشان داده شده است (شکل ۱). بر اساس نتایج بدست آمد، جدایه F1 با ارزش Bootstrap بالایی (۸۲٪) در کنار گونه *F. Oxysporum NRRL22902* قرار گرفت که فقط در سه نوکلوتید با هم اختلاف داشتند (شکل ۲). (O'Donnell *et al.*, 2015).



شکل ۱. باندهای تشکیل شده در نواحی ITS و TEF بر روی ژل آگارز



شکل ۲. درخت فیلوژنی بر اساس توالی ناحیه TEF و ITS متعلق به جنس *Fusarium* با روش maximum parsimony. اعداد بالای هر شاخه مقادیر Bootstrap از ۱۰۰۰ تکرار را نشان می‌دهد. جدایه مورد مطالعه در این تحقیق به صورت F1 مشخص شده است. گونه *Nectria cinnabarina* به عنوان outgroup معرفی شده است.

### آزمون اثبات بیماری زایی

علایم بیماری جدایه قارچ بیمارگر بعد از ۳۰ روز از تلقیح مایه بیمارگر ظاهر گردید. علایم بیماری به صورت پژمردگی، کوتولگی بوته های بیمار، زردی، نکروز شدن طوقه و ریشه و آوندهای گیاه ظاهر گردید. در تیمار شاهد بوته‌ها کاملاً سالم بودند. شدت بیماریزایی جدایه قارچ بیمارگر با میانگین بیماری زایی ۷۵ درصد تعیین گردید (شکل ۳).



شکل ۳. نتایج آزمون بیماریزایی جدایه قارچ بیمارگر بعد از ۳۰ روز تلقیح بوته‌ها. گلدان سمت راست هر تصویر، تیمار قارچ بیمارگر و گلدان‌های سمت چپ هر تصویر، تیمار شاهد است.

## آزمون اثبات اختصاصیت

جدایه قارچ عامل بیماری *Fusarium oxysporum* بعد از یک ماه فقط روی خیار ایجاد بیماری کرد و علائم بیماری به صورت زردی و پژمردگی و کوتولگی روی بوته های آلوده ظاهر گردید. هیچ گونه علائم بیماری روی بوته های گوجه فرنگی، گندم، لوبیا، نخود ایرانی، ریحان و تاج خروس بعد از یک ماه و حتی بیشتر ظاهر نشد.

### تأثیر جدایه های قارچ اندوفیت روی رشد پرگنه قارچ بیمارگر در شرایط آزمایشگاه

در این تحقیق تأثیر دو اندوفیت قارچی *C. urticicola* و *F. fomentarius* روی رشد پرگنه قارچ بیمارگر با دو روش کشت متقابل و ترکیبات فرار انجام شد. نتایج آزمایش نشان داد که جدایه های آنتاگونیستی به طور چشمگیری باعث کاهش رشد پرگنه قارچ بیمارگر شدند. دو اندوفیت *F. fomentarius* و *C. urticicola* بعد از هفت روز در روش کشت متقابل بترتیب ۷۱/۸۱، ۶۶/۸۱ درصد رشد پرگنه قارچ بیمارگر را نسبت به تیمار شاهد کاهش دادند (جدول ۱). نتایج ترکیبات فرار روی قارچ بیمارگر بعد از هفت روز نشان داد که دو اندوفیت *F. fomentarius* و *C. urticicola* بترتیب رشد پرگنه قارچ را ۶۶/۲۱ و ۶۱/۳۳ درصد کاهش دادند (جدول ۱).

جدول ۱. تأثیرات بازدارندگی اندوفیت های قاری روی رشد پرگنه قارچ بیمارگر در شرایط آزمایشگاه بعد از ۷ روز

تیمارها	کشت متقابل	ترکیبات فرار
	درصد بازدارندگی	درصد بازدارندگی
<i>F. fomentarius</i>	۷۱/۸۱ <sup>a</sup>	۶۶/۲۱ <sup>a</sup>
<i>C. urticicola</i>	۶۶/۸۱ <sup>b</sup>	۶۱/۳۳ <sup>b</sup>

نتایج داخل جدول میانگین پنج تکرار است. حروف غیر مشابه در جدول نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد بر اساس میانگین دانکن بین تیمارها می باشد.

### تأثیر جدایه های قارچ اندوفیت روی کاهش شدت بیماری پژمردگی فوزاریومی کدویان در شرایط گلخانه و مزرعه

یک ماه پس از تلقیح گیاهچه های خیار شدت بیماری فوزاریومی خیار اندازه گیری گردید. علائم بیماری در تیمار کنترل در گلخانه و مزرعه بترتیب پس از ۱۵ و ۲۰ روز به صورت زردی، پژمردگی و کوتولگی جزئی در گیاهچه های خیار ظاهر شد. اما در این مدت علائم بیماری در تیمار اندوفیت در گلخانه و مزرعه مشاهده نشد. پس از یک ماه علائم تبیین بیماری در گلخانه و مزرعه در تیمار شاهد بر خلاف تیمار اندوفیت مشاهده شد. هر دو قارچ اندوفیت به طور معنی داری شدت بیماری را در گلخانه و مزرعه کاهش دادند. در شرایط گلخانه، نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که دو عامل آنتاگونیست *F. fomentarius* و *C. urticicola* بترتیب سبب کاهش شدت بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار به میزان ۸۸/۳۵ و ۷۶/۶۷ درصد شدند. همچنین دو اندوفیت *F. fomentarius* و *C. urticicola* بترتیب سبب کاهش شدت بیماری به میزان ۸۲/۱۱ و ۷۶/۷۱ درصد در شرایط مزرعه شدند. (جدول ۲).

جدول ۲. تأثیر اندوفیت های قارچی روی شدت بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار در شرایط گلخانه و مزرعه

Treatments	شرایط گلخانه		شرایط مزرعه	
	شدت بیماری	کاهش بیماری (%)	شدت بیماری	کاهش بیماری (%)
Control	0.00 <sup>d</sup>	-	0.35 <sup>d</sup>	ت
Pathogen	4.00 <sup>a</sup>	-	3.71 <sup>a</sup>	-
<i>C. urticicola</i>	0.00 <sup>d</sup>	-	0.22 <sup>c</sup>	-
<i>F. fomentarius</i>	0.00 <sup>d</sup>	-	0.40 <sup>d</sup>	-
<i>C. urticicola</i> + Pathogen	0.93 <sup>b</sup>	76.67	0.86 <sup>b</sup>	76.71
<i>F. fomentarius</i> + Pathogen	0.47 <sup>c</sup>	88.35	0.66 <sup>c</sup>	82.11

داده های داخل جدول میانگین پنج تکرار در شرایط گلخانه و ۱۵ تکرار در شرایط مزرعه (سه کرت و هر کرت ۵ بوته) هستند. حروف غیر مشابه در جدول نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح پنج درصد بر اساس میانگین دانکن بین تیمارها می باشد.

### تأثیر جدایه‌های قارچ اندوفیت روی شاخص‌های رشدی گیاه خیار در شرایط گلخانه

نتایج اندوفیت‌های قارچی روی شاخص‌های رشد خیار در شرایط گلخانه نشان داد که هر دو اندوفیت تأثیر قابل توجهی در روی افزایش ارتفاع ساقه، تعداد ساقه، وزن تر ریشه و وزن خشک ریشه خیار داشتند (جدول ۳). نتایج آزمایش نشان داد که آنتاگونیست‌ها به تنهایی و حتی با وجود قارچ بیمارگر نیز تأثیر معناداری بر رشد و افزایش ارتفاع ساقه گیاه نسبت به شاهد داشتند. *C. urticicola* به تنهایی با ۹۳/۸۱ سانتی‌متر بیشترین تأثیر را در رشد ساقه داشت و *F. fomentarius* در مرحله دوم قرار گرفت (جدول ۳). نتایج تأثیر اندوفیت‌ها روی تعداد ساقه نشان داد که آنها نسبت به همدیگر تفاوت معناداری نداشتند ولی در مجاورت پاتوژن، *F. fomentarius* نسبت به *C. urticicola* تفاوت معناداری داشت و با تعداد ۰/۶، بیشترین تأثیر را در تعداد ساقه داشت (جدول ۳). تأثیر اندوفیت‌ها روی وزن تر ریشه نشان داد که اندوفیت *F. fomentarius* به تنهایی با ۳/۳۵ گرم بیشترین تأثیر را در وزن تر ریشه خیار دارد. آنتاگونیست *C. urticicola* در مجاورت پاتوژن تفاوت معناداری با شاهد آب نداشت اما به تنهایی قادر بود که تا ۲/۹۳ گرم وزن تر ریشه خیار را افزایش دهد (جدول ۳). تأثیر اندوفیت‌ها روی وزن خشک ریشه خیار نشان داد که همه تیمارها روی وزن خشک ریشه با هم تفاوت معناداری دارند و تیمار *F. fomentarius* توانست وزن خشک ریشه تا ۲/۳۹ گرم نسبت سایر تیمارها افزایش دهد. تیمار اندوفیت *C. urticicola* به تنهایی و با تیمار ترکیب قارچ بیمارگر در یک گروه قرار گرفتند و اختلاف معنی داری با هم نداشتند (جدول ۳).

جدول ۳. تأثیر اندوفیت‌های قارچی روی شاخص‌های رشدی گیاه خیار در شرایط گلخانه

تیمارها	ارتفاع ساقه	تعداد ساقه	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)
Control	55.41 <sup>d</sup>	0.20 <sup>b</sup>	2.09 <sup>c</sup>	0.41 <sup>d</sup>
Pathogen	19.23 <sup>e</sup>	0.00 <sup>c</sup>	0.57 <sup>d</sup>	0.10 <sup>e</sup>
<i>C. urticicola</i>	93.81 <sup>a</sup>	0.53 <sup>a</sup>	2.93 <sup>b</sup>	0.82 <sup>c</sup>
<i>F. fomentarius</i>	80.91 <sup>bc</sup>	0.60 <sup>a</sup>	3.35 <sup>a</sup>	2.39 <sup>a</sup>
<i>C. urticicola</i> + Pathogen	76.94 <sup>bc</sup>	0.33 <sup>b</sup>	1.913 <sup>c</sup>	0.83 <sup>c</sup>
<i>F. fomentarius</i> + Pathogen	83.98 <sup>b</sup>	0.60 <sup>a</sup>	3.19 <sup>a</sup>	1.39 <sup>b</sup>

اعداد داخل جدول میانگین ۵ تکرار است. حروف غیر مشابه در جدول نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد بر اساس میانگین دانکن است.

### بحث

بر اساس نتایج حاصل از مطالعات ریخت‌شناسی، مولکولی، آزمون اثبات بیماری‌زایی و تعیین دامنه میزبانی، جدایه قارچ عامل بیماری به‌عنوان *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* شناسایی شد. نتایج آزمون اثبات بیماری‌زایی نشان داد که جدایه انتخابی قادر است در مقایسه با تیمار شاهد، تا ۷۵ درصد در گیاهچه‌های خیار ایجاد بیماری نماید. همچنین، آزمون اختصاصیت میزبانی مشخص کرد که این جدایه بیمارگر صرفاً روی خیار بیماری‌زا بوده و پس از یک ماه، در سایر خانواده‌های گیاهی هیچ‌گونه علائم بیماری مشاهده نشد. این نتایج با گزارش‌های پیشین مطابقت داشت (Kistler, 2001; Rowe, 1980). کنترل زیستی به‌عنوان یک راهبرد اساسی به منظور جلوگیری از بیماری پژمردگی فوزاریومی در خیار و سایر صیفی‌جات به منظور تولید محصول ایمن و سالم مورد توجه پژوهشگران زیادی قرار گرفته است (Cai et al., 2024; Wang et al., 2016; Wu et al., 2016). در همین راستا، مطالعات زیادی به بررسی نقش اندوفیت‌های قارچی و باکتریایی در کنترل زیستی بیماری‌های گیاهی انجام شده است (Aydi Ben Abdallah et al., 2016; Raza et al., 2017; Saravanakumar et al., 2016).

در این تحقیق، اثر دو اندوفیت قارچی *F. fomentarius* و *C. urticicola* بر بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار در شرایط آزمایشگاه، گلخانه و مزرعه بررسی شد. هر دو جدایه قارچ اندوفیت از ریشه‌گندم‌های سالم جداسازی شده بودند (Gholami et al., 2019). نتایج نشان داد که ترکیبات فرار تولید شده توسط این دو اندوفیت، رشد پرگنه قارچ بیمارگر را بیش از ۶۱ درصد کاهش دادند. همچنین، در آزمون کشت متقابل، میزان مهار رشد پرگنه قارچ عامل بیماری بیش از ۶۶ درصد بود. افزون

براین، در شرایط گلخانه و مزرعه نیز شدت بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار را بیش از ۷۶ درصد کاهش یافت. مطالعات پیشین نیز نشان داد که این دو اندوفیت قارچی قادرند بطور معنی داری رشد *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* را مهار کرده و شدت بیماری پاخوره گندم در شرایط آزمایشگاه و گلخانه کاهش دهند (Gholami et al., 2019). بطور مشابه پروتاز و  $\beta$  (1-3) glucanase توانسته است رشد قارچ *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* با تولید متابولیت‌های ثانویه و آنزیم‌های نظیر کیتیناز، سلولاز، کاهش دهد (Srvanakumar, 2016).

گزارش‌های محدودی در خصوص استفاده از *C. urticicola* و *F. fomentarius* به عنوان اندوفیت در کنترل زیستی بیماری‌های گیاهان وجود دارد (Osés et al., 2006; Sanchez Marquez et al., 2007). این قارچ‌ها قادر به تولید ترکیبات ضد میکروبی مثل سیدروفورها و آنزیم‌های تجزیه کننده دیواره سلولی از جمله پروتاز، پکتیناز و کیتیناز بوده و توانایی کلونیزه کردن موثر بافت‌های گیاهی به ویژه ریشه و طوقه را دارند (Gholami et al., 2019; Samain et al., 2017; Liu et al., 2017; Karimi et al., 2007). همچنین گزارش شده است که اندوفیت *Paenibacillus polymyxa* تولید آنزیم‌های تجزیه کننده دیواره سلولی، ترکیبات ضد میکروبی و سیدروفورها، رشد قارچ عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار را به طور قابل توجهی مهار می‌کنند (Cai et al., 2024). تولید هورمون‌های گیاهی نظیر اکسین و جیبرلین توسط اندوفیت‌ها نیز می‌تواند نقش مهمی در افزایش رشد گیاه و القای مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا ایفا نماید (Yasmin et al., 2017; Yu et al., 2009; Khan et al., 2008).

دو قارچ اندوفیت *Rhizoctonia zae* و *C. urticicola* توانستند شاخص‌های رشدی گیاه گندم را به تنهایی و در حضور قارچ *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* در مقایسه با تیمار کنترل افزایش دهند (Gholami et al., 2019). این پدیده می‌تواند ناشی از تولید ترکیبات ضد میکروبی و ترکیبات تجزیه کننده دیواره سلولی از قبیل پروتاز، کیتیناز، پکتیناز، سلولاز و همچنین تولید هورمون‌های اکسین و جیبرلین توسط قارچ‌های اندوفیت باشد که نقش اساسی در کنترل عوامل بیماری‌زا و تنظیم رشد و نمو گیاهان دارند (Cai et al., 2024; Karimi et al., 2017; Yasmin et al., 2017; Yu et al., 2009; Khan et al., 2008). تضعیف قارچ بیمارگر و حذف آن از چرخه رقابت می‌شود (Gholami et al., 2019; Nowacka et al., 2015; Elkhateeb et al., 2020; Cai et al., 2024). نتایج این تحقیق نشان داد که بین یافته‌های آزمایشگاهی و نتایج گلخانه‌ای و مزرعه‌ای همبستگی معنی داری وجود دارد، بطوری که کاهش رشد پرگنه قارچ بیمارگر در آزمایشگاه با کاهش شدت بیماری در شرایط گلخانه و مزرعه همراه بود. یافته‌های این پژوهش با گزارش‌های دیگر محققان همراستا است، از جمله *Bacillus subtilis* 1JN2 که توانسته شدت بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار را تا ۵۸/۵ درصد کاهش دهد (Yang et al., 2024) و قارچ‌های اندوفیت *Penicillium* sp. و *Hypocrea* sp. که علاوه بر کاهش شدت بیماری، موجب بهبود شاخص‌های رشدی گیاه خیار شده‌اند (Abro et al., 2019). همچنین باکتری *Bacillus amyloliquefaciens* B2 با تولید سیدروفور، اکسین و افزایش قابلیت جذب فسفر، سبب کاهش شدت بیماری و بهبود رشد گیاه خیار شده است (Wang et al., 2021). در مجموع، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که اندوفیت‌های مورد بررسی می‌توانند به‌عنوان عوامل آنتاگونیست مؤثر و در قالب کودهای زیستی، در افزایش مقاومت گیاه خیار، مدیریت بیماری پژمردگی فوزاریومی و در نهایت افزایش عملکرد محصول مورد استفاده قرار گیرند.

## نتیجه گیری و پیشنهادات

نتایج این تحقیق نشان داد که دو اندوفیت *C. urticicola* و *F. fomentarius* توانایی زیادی به عنوان عوامل بیوکنترل علیه بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار در شرایط آزمایشگاه، گلخانه و مزرعه دارند. مکانیسم کنترل بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار توسط این دو اندوفیت، ممکن است ناشی از پدیده آنتی‌بیوز، رقابت بر سر مواد غذایی و یا اینکه افزایش مقاومت گیاه میزبان

در اثر تحریک این دو عامل آنتاگونیست باشد. بر اساس بررسی‌های صورت گرفته ما، این اولین گزارش از کاربرد و توانایی موفق این دو اندوفیت روی کاهش فعالیت قارچ *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* و تاثیر مثبت آنها روی بهبود و افزایش عملکرد گیاه خیار است. با این حال، جهت تجاری‌سازی و استفاده عملی از این عوامل زیستی در قالب کودهای بیولوژیک، انجام مطالعات تکمیلی ضروری است. این مطالعات می‌تواند شامل: ارزیابی پایداری اندوفیت‌ها در شرایط مزرعه و خاک‌های مختلف، بررسی مولکولی ژن‌های درگیر در تولید ترکیبات ضدقارچی و پاسخ‌های دفاعی گیاه و نیز سازگاری با نهاده‌های کشاورزی رایج و قارچ‌کش‌های کم خطر باشد. در مجموع، یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که *F. fomentarius* و *C. urticicola* می‌توانند به‌عنوان گزینه‌های نوظهور و سازگار با محیط‌زیست، به‌عنوان یک راهبرد موفق در مدیریت تلفیقی بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار مطرح شوند و در صورت تأیید نتایج در مقیاس‌های بزرگ‌تر، به‌عنوان جایگزین یا مکمل قارچ‌کش‌های شیمیایی در برنامه‌های مدیریت بیماری به‌کار گرفته شوند.

## REFERENCES

- Abdallah, R. A. B., Jabnoun-Khiaereddine, H., Nefzi, A., Mokni-Tili, S., & Daami-Remadi, M. (2016). Biocontrol of Fusarium wilt and Growth promotion of tomato plants using endophytic bacteria isolated from *Solanum elaeagnifolium* stem. *Biological control*, 97, 80-88. DOI: 10.1111/jph.12501
- Abro, M. A., Xiang Sun., Xingchun Li., Ghulam, H. J., & Liang-Dong Gue. (2019). Biocontrol potential of fungal endophytes against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* causing wilt in cucumber. *Plant Pathology Journal*, 35(6), 598-608. DOI: 10.5433/ppj.OA.05.2019.0129
- Alabouvette, C., Lemanceau, P., & Steinberg, C. (1993). Recent advance in the biological-control of Fusarium wilts. *Pesticide Science*, 37, 365-373. <https://doi.org/10.1002/ps.2780370409>
- Aydi, Ben Abdallah, R., Mokni-Tlili, S., Nefzi, A., Jabnoun Khiaereddine, H., & Daami-Remadi, M. (2016). Biocontrol of Fusarium wilt and growth promotion of tomato plants using endophytic bacteria isolated from *Nicotiana glauca* organs. *Biological Control*, 97, 80-88. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.03.005>
- Cai, F., Yang, C., Ma, T., Osei, R., Jin, M., Zhang, C., & Wang, Y. (2024). An endophytic *Paenibacillus polymyxa* hg18 and its biocontrol potential against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *Biological Control*, 188, 105380. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105380>
- Dennis, C., & Webster, J. (1971). Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*, production of non-volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, 57: 25-39. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(71\)80077-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(71)80077-3).
- Etebarian, H.R. (2012). Diseases of vegetable and cucurbit and their control. University of Tehran press. 600 pp.
- Geiser, D. M., Jimenez-Gasco, M., Kang, S., Makalowska, I., Veeraraghavan, N., Ward, T. J., Zhang, N., Kuldau, G. A. & O'Donnell, K. (2004). FUSARIUM-ID v. 1.0: a DNA sequence database for identifying Fusarium. *European Journal of Plant Pathology*, 110, 473-479. <https://doi.org/10.1023/B:EJPP.0000032386.75915.a0>
- Gerlach, W., & Nirenberg, H. (1982). The Genus *Fusarium*- a Pictorial Atlas. Mitt. Boil. Institut Microbiology, Berlin-Dahlem. 406p.
- Gholamia, M., Amini, J., Abdollahzadeha, J., Ashengroph. (2019). *Basidiomycetes* fungi as biocontrol agents against take-all disease of wheat. *Biological control*, 130, 34-43. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.12.012>
- Hall, T.A. (1999). BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor and Analysis Program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, 95-98.
- Karimi, K., Babai Ahari, A., Arzanlou, M., Amini, J., & Pertot, I. (2017). Comparison of in digenous *Trichoderma* spp. strains to a foreign commercial strain in terms of bio control efficacy against *Colletotrichum nymphaeae* and related biological features. *Journal of Plant Disease Protection*. 124, 453-466. DOI: 10.1007/s41348-017-0088-6
- Katoh, K. & Standley, D. M. (2013). MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability (Article). *Molecular Biology and Evolution*, 30, 772-780. DOI: 10.1003/molbev/mst010
- Kistler, H. C. (2001). Evolution of host specificity in *Fusarium oxysporum*. P. 70-96. In B. A. Suummerell, J. F. Leslie, D. Backhouse, W. L. Bryden, and L. W. Burgess (eds), *Fusarium: Paul E. Nelson Memorial Symposium*. APS Press, St. Paul, Minnesota.
- Leslie, J. F & Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing professional, Ames, Iowa, USA.
- Liu, B., Huang, L.L., Kang, Z.S., & Qiao, H.P. (2007). Efficiency and mechanism on en dophytic bacteria strains against the take-all disease of wheat. *Acta Phytopylacica Sinica*. 34, 221-222.
- Lu, D., Ma, Z., Xu, X., & Yu, X. (2016). Isolation and identification of biocontrol agent *Streptomyces rimosus* M527 against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *Journal of Basic Microbiology*, 56, 929-933. DOI: 10.1002/jobm.201500666
- Lu shi., Nanshan, Du., Sheng shu., Jin Sun., Shuzhan Li., & Shiring Guo. (2017). *Paenibacillus polymyxa* NSY50 suppresses Fusarium wilt in cucumbers by regulating the rhizospheric

- microbial community. Scientific reports, 7(41234). DOI: 10:1038/srep41234
- Meldrum, R. A., Daly, A. M., Lit, T. N., & Eab, A. (2013). The effect of surface sterilants on spore germination of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4. Crop Protection, 9, 194-198. DOI: 10.1016/j.cropro.2013.08.014
- Nel, B., Steinberg, C., Labuschagne, N., & Viljoen, A. (2007). Evaluation of fungicides and sterilants for potential application in the management of Fusarium wilt of banana. Crop protection, 26, 697-705. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.06.008>
- Nelson, P. E., Tousson, T. A & Marass, W. F. D. (1983). Fusarium species: An illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press. 193 pp.
- O'Donnell, K., Cigelnik, E. & Nirenberg, H. I. (1998). Molecular systematics and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. Mycologia, 90, 465-493. DOI:10.2307/3761407
- O'Donnell, K., Ward, W. J., Robert, V. A. R. G., Crous, P. W., Gieser, D. M., & Kang, S. (2015). DNA sequence-based identification of Fusarium: Current status and future directions. Phytoparasitica, 43, 583-595. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12600-015-0484-z>
- Oses, R., Valenzuela, S., Freer, J., Baesa, J., & Rodriguez, J. 2006. Evaluation of fungal endophytes for lignocellulolytic enzyme production and wood biodegradation. Int. Biodeterior Biodegradation 57 (2), 129–135. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2006.01.002>
- Patel, H. A., Patel, R. K., Khristi, S. M., Parikh, K., & Rajendran, G. (2012). Isolation and characterization of bacterial endophytes from Lycopersicon esculentum plant and their plant growth promoting characteristics. Nepal Journal of Biotechnology, 2, 37-52. DOI:10.3126/njb.v2il.5679
- Palmieri, D., Vitullo, D., Curtis, F., & Lima, G. (2016). Amicrobial consortium in the rhizosphere as a new biocontrol approach against fusarium decline of chickpe. Plant soil, 412 (1-2) DOI: 10.1007/s11104-016-3080-1
- Prabhukarthkeyyan, R., Saravanakumar, D., & Raguchander, T. (2014). Combination of endophytic *Bacillus* and *Beauveria* for the management of Fusarium wilt and fruit borer in tomato. Pest management science, 70, 1742-1750. DOI: [doi.org/10.1002/ps.3719](https://doi.org/10.1002/ps.3719)
- Raeder, U., & Broda, P. (1985). Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. Letters in Applied Microbiology, 1, 17-20. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765X.1985.tb01479.x>
- Raza, W., Ling, N., Zhang, R., Huang, Q., Xu, Y., & Shen, Q. (2017). Successs evaluation of the biological control of Fusarium wilts of cucumber, banana, and tomato since 2000 and future research strategies. Critical Reviwes Biotechnology, 37, 202-212. DOI: 10.3109/07388551.2015.1130683
- Redman, R. S., Anderson J. A., Biaggi T. M., Malmberg K. E., Rienstra M. N., Weaver J. L., & Rodriguez R. J. (2022). Symbiotic modulation as a driver of niche expansion of coastal plants in the San Juan Archipelago of Washington State. Frontiers in Microbiology, 13, 868081. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.868081>
- Reis, A., Costa, H., Boiteux, L. S., & Lopes, C. A. (2005). First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersisci* race 3 on tomato in Brazil. Fitopatologia Brasileira, 30, 426-428. DOI: 10.1590/S010041582005000400017
- Rowe, R. C. (1980). Comparative pathogenicity and host arranges of *Fusarium oxysporum* isolates causing crown and root rot of greenhouse and field grown tomatoes in North America and Japan. Phytopathology, 70, 1143-1148.
- Safara, S., Harighi, B., Amini, J., & Bahramnejad, B. (2022). Screening of endophytic bacteria isolated from Beta vulgaris and Beta maritima plants for suppression of postharvest sugar beet soft rot agent, *Enterobacter roggenkampii*. Physiological and Molecular Plant Pathology, 121, 101892. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.921762>
- Samain, E., Van Tuineu, D., Jeandet, P. h., & Aussenac. (2017). Biological control of septoria leaf blotch and growth promotion in wheat by *Paenibacillus* sp. strain B2 and *Curtobacterium plantarum* strain EDS. Biological control, 114, 87-96. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.07.012>
- Sanchez, Marquez, S., Bills, G.F., & Zabalgogezcoa, I. (2007). The endophytic mycobiota of the grass Dactylis glomerata. Fungal Diversit, 27, 171–195.

- Saravanakumar, K., Yu, C., Dou, K., Wang, M., Li, Y., & Chen, J. (2016). Synergistic effect of *Trichoderma*-derived antifungal metabolites and cell wall degrading enzymes on enhanced biocontrol of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. *Biological Control*, 94,37-46. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.12.001>
- Shahbazi, S., Zaker Tavallaie, F., & Daroodi, D. (2021). Morphological and molecular identification of *Fusarium* spp. associated with carnation *Dianthus caryophyllus* in Mahallat, Iran. *Journal of Crop Protection*, 10(3), 461-471. DOI: 10.48311/jcp.2021.1547
- Shahriyari, D., Zare, R., Hafez, Kh. & Kherkhani, H. (2006). Fusarium root and stem rot of cucumber. In: Proceedings of the 17th Iranian Plant Protection Congress, 2-5 Sep, University of Tehran, Karaj, Iran. (In Persian).
- Swofford, D. L. (2002). phylogenetic analysis using parsimony (and other methods). Sunderland, Massachusetts Sinauer Associates.
- Vethavalli, S., & Sudha, S. S. (2012). In vitro and in silico studies on biocontrol agent of bacterial strains against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Research in Biotechnology*, 3, 22-31.
- Vos, C. M., Yang, Y., De Coninck, B., & Cammue, B. P. A. (2014). Funga (-like) biocontrol organism in tomato disease control. *Biological Control*, 74, 65-81. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.04.004>
- Wang, H., Yu, X., Cai, Y., Xu, M., & Tian, F. (2021). Enhanced biocontrol of Cucumber Fusarium wilt by combined application of new antagonistic bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* B2 and Phenolic Acide-Degrading fungus *Pleurotus ostreatus* P5. *Frontiers in Microbiology*, 12, 700142. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2021.700142>
- Wang, R., Yu, X., Yin, Y., Norvinyeku, J., Khan, R. A. A., & et al. (2023). Biocontrol of cucumber Fusarium wilt by *Trichoderma asperellum* FJ035 dependent on antagonism and spatiotemporal competition with *Fusarium oxysporum*. *Biological Control*, 186, 105334. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2023.105334>
- Wang, S., Liang, Y., Shen, T., Yang, H., & Shen, B. (2016). Biological characteristics of CT205 and its biocontrol potential against cucumber Fusarium wilt. *Biocontrol Science and Technology*, 26, 1-23. <https://doi.org/10.1080/09583157.2016.1172203>
- White, T. J., Bruns, T., Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White JW (eds). *A Guide to Molecular Methods and Applications*. Academic Press, New York. Pp. 315–322.
- Wu, L., Shang, H., Wang, Q., Gu, H., Liu, G. & Yang, S. (2016). Isolation and characterization of antagonistic endophytes from *Dendrobium candidum* Wall ex Lindl., and the bio fertilizing potential of a novel *Pseudomonas saponiphila* strain. *Applied Soil and Ecology*, 105,101-108. DOI:10.1016/j.apsoil.2016.04.008
- Yang, W., Wang, L., Li, X., Yan, H., Zhong, B., Du, X., Guo, Q., He, T & Luo, Y. (2024). Biological Control Potential of *Bacillus subtilis* Isolate 1JN2 against Fusarium Wilt on Cucumber. *Horticulturae*, 10, 843. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10080843>
- Yousef, S. A., Tartoura, K. A., & Abdelraouf, G. A. (2016). Evaluation of *Trichoderma harzianum* and *Serratia proteamaculans* effect on disease suppression, stimulation of ROS-scavenging enzymes and improving tomato growth infected by *Rhizoctonia solani*. *Biological control*, 100, 79-86. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.06.001>