



Effect of capsulated *Bacillus velezensis* with alginate on plant growth indexes and improve of resistance under *Rhizoctonia solani* -stress in tomato

Abdolhossein Taheri^{1✉}, Seyed Javad Sanei², Elahe Lotfalinezhad³, Amin Radmard⁴

1. Corresponding Author, Department of Plant Protection, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: a.taheri@gau.ac.ir
2. Department of Plant Protection, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: sanei@gau.ac.ir
3. Department of Plant Protection, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: elahelotfalinezhad@yahoo.com
4. Department of Plant Protection, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail: amin.radmard70@gmail.com

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Article	This study aimed to identify the stability of a biocontrol agent and develop a formulation to achieve the highest survival percentage and effectiveness of <i>Bacillus velezensis</i> . The effect of the <i>B. velezensis</i> capsule formulation on the growth of tomato plants and the plant defense mechanism against <i>Rhizoctonia solani</i> were assessed. Capsules were produced using the ionic gelation method. Tomato seeds inoculated with capsulated or non-capsulated <i>B. velezensis</i> were planted in soil artificially infected with <i>R. solani</i> . After 40 days, plant growth parameters, damping-off incidence of seedlings, and antioxidant activity variations were assessed. A factorial experiment based on a completely randomized design with 4 replications was conducted. The viability of capsulated <i>B. velezensis</i> , following 90 days at both 25 °C and 35 °C, was determined to be 58% and 53%, respectively, indicating the positive effect of capsules in enhancing bacterial viability and resistance compared to the non-capsulated form. Greenhouse experiments showed that capsulated <i>B. velezensis</i> inhibited disease incidence compared to the non-capsulated formulation. Capsulated <i>B. velezensis</i> exhibited extreme differences in growth parameters compared to the control, with the most notable being root and shoot length. The results highlighted the advantages of <i>B. velezensis</i> and its capsule formulation towards enforcing resistance against damping-off disease and promoting growth parameters in tomato plants. This approach can be proposed as a biotechnological tool to induce plant growth promotion and stress tolerance against <i>R. solani</i> .
Article history: Received: 21 March 2025 Revised: 23 April 2025 Accepted: 28 May 2025 Published online: Spring and Summer 2025	
Keywords: <i>Induced resistance,</i> <i>Growth promotion,</i> <i>Bacillus velezensis,</i> <i>Capsule formulation,</i> <i>Rhizoctonia solani.</i>	

Cite this article: Taheri, A., Sanei, S. J., Lotfalinezhad, E. & Radmard, A. (2025). Effect of capsulated *Bacillus velezensis* with alginate on plant growth indexes and improve of resistance under *Rhizoctonia solani* -stress in tomato. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 56 (1), 169-178. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2026.409908.1007106>



© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2026.409908.1007106>

Extended Abstract

Introduction

Tomato crops are severely affected by soilborne pathogens like *Rhizoctonia solani*, which causes extensive losses through damping-off and root rot diseases. Since traditional fungicide applications have limited success and are environmentally risky, biological control using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), especially *Bacillus* species, offers an environmentally friendly alternative. These beneficial bacteria combat pathogens through the production of antimicrobial substances, competition for nutrients, and plant growth stimulation. However, PGPR are faced with survival challenges in field conditions due to environmental stresses like temperature, pH, moisture, and competitive microorganisms. Ionically gelated encapsulation technology using biocompatible polymers like sodium alginate is a new strategy that entraps microorganisms in biodegradable capsules, thereby providing controlled release, improving soil establishment, extending shelf life, reducing application frequency, and being environmentally compatible.

Materials and Methods

Firstly, *B. velezensis* isolate and *R. solani* pathogen fungus were obtained from Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources' fungal collection in the Plant Pathology Department. Encapsulated and non-encapsulated *B. velezensis* inhibitory capacity against *R. solani* were tested through dual culture, volatile compound, and non-volatile compound tests in PDA medium according to completely randomized design with four replications. Encapsulated *B. velezensis* was thereafter prepared using ionic gelation method with 2% sodium alginate and 0.1 M calcium chloride solution, and capsule morphology, size, and encapsulation efficiency were determined. The shelf life of bacterial in 5, 25, and 35°C temperatures for 15 days was evaluated in encapsulated versus non-encapsulated form. Greenhouse experiments were performed to evaluate the ability of these formulations to control *R. solani* damping-off disease with a growth period of 30 days in tomatoes using a factorial experiment based on a completely randomized design with 4 replications. The factors that were studied were: 1- Treatments (encapsulated *B. velezensis*, non-encapsulated *B. velezensis*, and sodium alginate capsules without bacteria as control), 2- Various concentrations of bacterial treatments (1×10^3 , 5×10^3 , and 10^4 CFU/g for encapsulated and CFU/ml for non-encapsulated forms), and 3- Temperature storage conditions (5, 25, and 35°C). Plant growth parameters, disease incidence, and antioxidant activity were measured following standard protocols, and data were calculated using R.4.2.2 software with Duncan's multiple range test at $p \leq 0.05$ level of significance.

Results

Encapsulated *B. velezensis* capsules through ionic gelation method exhibited approximate spherical shape having wet capsules size 2600 micrometers in diameter (transparent white) and dried capsules size 1000 micrometers (yellow, wrinkled surface). Encapsulation efficiency was 99%. Encapsulation also enhanced the survival and stability of *B. velezensis* at 25°C and 35°C compared to the non-encapsulated form with 5°C being the optimal storage condition for long term. No protective difference was observed among dry and wet capsules against temperature changes. Greenhouse experiments confirmed encapsulated *B. velezensis* formulation suppressed disease incidence in comparison to non-capsulated *B. velezensis* and bacterial-free capsules. Encapsulated *B. velezensis* treated plants exhibited considerable improvement of growth indices compared to control groups with only root height found to be significantly affected by formulation type. The findings substantiate the positive and effective role of encapsulated *B. velezensis* towards seedling mortality reduction and tomato growth promotion, validating its efficacy as an effective alternative to enhance reduction of chemical pesticide dependency.

Conclusion

The findings of this research indicate that the application of encapsulated formulation significantly improves the persistence and viability of *B. velezensis* compared to the non-encapsulated one, and can also lead to the promotion of its inhibitory ability. Therefore, the obtained results are of great significance regarding the practical application of microbial fungicides based on encapsulated formulation and provide a clear vision for the application of encapsulated *B. velezensis* as a promising alternative to reducing the application of chemical pesticides.

Author Contributions

Conceptualization, A. Taheri and S.J. Sanei; methodology, S.J. Sanei and E. Lotfalinezhad; Research & Investigation, A. Taheri, S.J. Sanei, E. Lotfalinezhad and A. Radmard; software, S.J. Sanei and E. Lotfalinezhad; writing—original draft preparation, S.J. Sanei and E. Lotfalinezhad; writing—review and editing, A. Taheri, S.J. Sanei, E. Lotfalinezhad and A. Radmard; All authors have read and agreed to the published version of the manuscript. A. Taheri is supervisor and S.J. Sanei is advisor of the project. All authors contributed equally to the conceptualization of the article and writing of the original and subsequent drafts.

Data availability statement

Data generated or analyzed during this study are provided in full within the published article.

Ethical considerations

All research followed ethical guidelines to minimize harm to insects and avoid disruption of natural habitats. Sampling was limited to the minimum necessary, and no endangered or protected species were collected. All activities complied with relevant regulations, and data were recorded and reported with integrity.

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflicts of interest



تأثیر پوشش دهی باکتری *Bacillus velezensis* توسط آلزینات بر شاخص های رشد و بهبود مقاومت به بوته میری رایز و کتونایی در گیاه گوجه فرنگی

عبدالحسین طاهری^۱ | سید جواد صانعی^۲ | الهه لطفعلی نژاد^۳ | امین رادمرد^۴

۱. نویسنده مسئول، گروه گیاه پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران. رایانامه: a.taheri@gau.ac.ir
۲. گروه گیاه پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران. رایانامه: sanei@gau.ac.ir
۳. گروه گیاه پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران. رایانامه: elahelotfalinezhad@yahoo.com
۴. گروه گیاه پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران. رایانامه: amin.radmard70@gmail.com

چکیده	اطلاعات مقاله
این مطالعه با هدف بررسی پایداری عامل مهار زیستی و توسعه فرمولاسیون مناسب جهت افزایش زندهمانی و بهبود عملکرد باکتری <i>Bacillus velezensis</i> انجام شد. در این بررسی تأثیر فرمولاسیون کپسول <i>B. velezensis</i> بر رشد گیاه گوجه فرنگی و پاسخ های دفاعی گیاه علیه <i>Rhizoctonia solani</i> بررسی شد. تهیه کپسول ها با استفاده از روش ژلاسیون یونی بود. بذر گوجه فرنگی پس از تیمار با فرمولاسیون کپسوله و غیر کپسوله <i>B. velezensis</i> در خاک آلوده به <i>R. solani</i> کشت گردید و پس از ۴۰ روز، شاخص های رشدی گیاه، درصد بیماری مرگ گیاهچه و تغییر فعالیت آنتی اکسیدانی بررسی شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار طراحی گردید. درصد زندهمانی <i>B. velezensis</i> کپسوله بعد از ۹۰ روز قرارگیری در دماهای ۲۵ و ۳۵ درجه سلسیوس به ترتیب ۵۸ و ۵۳ درصد بوده است که نقش مثبت کپسول ها در افزایش زندهمانی و مقاومت <i>B. velezensis</i> نسبت به حالت غیر کپسول را نشان می داد. کاربرد فرمولاسیون کپسول <i>B. velezensis</i> در شرایط گلخانه کاهش درصد بیماری را در مقایسه با فرمولاسیون غیر کپسول نشان داد. تفاوت معنی داری از نظر شاخص های رشد در گیاهان تیمار شده با <i>B. velezensis</i> کپسوله در مقایسه با شاهد مشاهده شد و بیشترین تغییرات به ارتفاع ریشه و ساقه مربوط بود. این نتایج بر تأثیر مثبت <i>B. velezensis</i> همچنین فرمولاسیون کپسول آن در القای مقاومت علیه بیماری مرگ گیاهچه و افزایش شاخص های رشدی در گیاه گوجه فرنگی تأکید دارد و می تواند به عنوان یک رهیافت زیست فناوری برای بهبود رشد و مقاومت به تنش ناشی از <i>R. solani</i> پیشنهاد شود.	نوع مقاله: مقاله پژوهشی تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۰۱ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۲/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۰۷ تاریخ انتشار: بهار و تابستان ۱۴۰۴ کلیدواژه ها: القای مقاومت، بهبود رشد، <i>Bacillus velezensis</i> فرمولاسیون کپسول، <i>Rhizoctonia solani</i>

استناد: طاهری، عبدالحسین؛ صانعی، سید جواد؛ لطفعلی نژاد، الهه و رادمرد، امین (۱۴۰۴). تأثیر پوشش دهی باکتری *Bacillus velezensis* توسط آلزینات بر شاخص های رشد و بهبود مقاومت به بوته میری رایز و کتونایی در گیاه گوجه فرنگی. نشریه دانش گیاه پزشکی ایران، ۵۶ (۱)، ۱۶۹-۱۷۸. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2026.409908.1007106>



© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2026.409908.1007106>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

تأمین امنیت غذایی برای جمعیت رو به رشد جهان، نیازمند افزایش بهره‌وری کشاورزی و کاهش خسارات ناشی از بیماری‌های گیاهی است (Abbas et al., 2024). در میان این بیماری‌ها، قارچ‌های بیمارگر با کاهش سالیانه عملکرد محصولات بین ۲۰ تا ۴۰ درصد تهدیدی جدی برای تولید پایدار محسوب می‌شوند (Khalil et al., 2019; Abbas et al., 2024). گیاه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) پس از سیب‌زمینی دومین محصول ارزشمند خانواده سولاناسه بوده و میوه‌ی آن سرشار از ترکیبات تغذیه‌ای مانند ویتامین‌ها، مواد معدنی و آنتی‌اکسیدان‌هاست (Erba et al., 2013). با وجود این اهمیت، بیماری‌های قارچی، باکتریایی، نماتدی و ویروسی خسارات قابل توجهی بر عملکرد آن وارد می‌کنند (Singh et al., 2017). از میان بیمارگرهای قارچی، *Rhizoctonia solani* Kühn به دلیل دامنه میزبانی گسترده و پایداری طولانی‌مدت در خاک، یکی از عوامل اصلی پوسیدگی ریشه و بوته‌میری است (Yang & Li, 2012). اثربخشی محدود قارچ‌کش‌ها و پیامدهای زیست‌محیطی ناشی از مصرف گسترده آن‌ها، لزوم توسعه روش‌های پایدار کنترل بیماری را برجسته ساخته است (Zhu et al., 2018). در این راستا، به‌کارگیری روش مهار زیستی با استفاده از میکروارگانیسم‌های آنتاگونیست، به‌عنوان رویکردی امیدوارکننده و سازگار با محیط‌زیست مورد توجه قرار گرفته است (Ab Rahman et al., 2018; Khedher et al., 2021). این عوامل نه‌تنها خسارت ناشی از عوامل بیماری‌زای گیاهی را کاهش می‌دهند، بلکه به حفظ و بازگرداندن تعادل در اکوسیستم‌های کشاورزی نیز کمک می‌کنند (Hermosa et al., 2012).

باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) از طریق رقابت و تولید طیف متنوعی از ترکیبات ضد میکروبی، تحریک رشد گیاه با ترشح هورمون‌های گیاهی و فعال‌سازی سیستم ایمنی گیاه، قادر به کاهش بروز بیماری‌ها و ارتقاء رشد گیاهان می‌باشند (Zhang et al., 2021). در این گروه، گونه‌های جنس *Bacillus* با توانایی ویژه در تکثیر سریع از طریق رقابت برای فضا و مواد غذایی، مانع استقرار بیمارگرهای گیاهی می‌شوند. این باکتری‌ها با تولید ساختار مقاوم اندوسپور علاوه بر زنده‌ماندن در شرایط نامساعد محیطی می‌توانند با ترشح ترکیبات ضد میکروبی گوناگون شامل لیپوپپتیدها، آنتی‌بیوتیک‌ها، آنزیم‌ها و مواد آلی فرار، رشد گیاه را تحریک کرده و مقاومت سیستمیک را در گیاه القا کنند (Ma et al., 2022). با این حال، باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) به دلیل حساسیت به عوامل مختلف محیطی و خاکی، از جمله دما، رطوبت، pH، مواد شیمیایی، اشعه فرابنفش، وجود میکروارگانیسم‌های رقیب و سایر تنش‌های محیطی، به‌سادگی در اطراف ریشه گیاه مستقر نمی‌شوند و بقا و پایداری آن‌ها در شرایط مزرعه محدود است (Vessey, 2003; Calabi-Floody et al., 2018).

تهیه فرمولاسیون مناسب برای بهره‌گیری از مزایای ارزشمند عامل مهار زیستی، کارایی و اثربخشی به ویژه در شرایط مزرعه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. یکی از فرمولاسیون‌های مؤثر در این زمینه، کپسوله‌کردن یا پوشش‌دهی عامل مهار زیستی است (Lopes et al., 2023; Lotfalinezhad et al., 2024). در این روش، با احاطه شدن بخش فعال عامل مهار زیستی توسط مواد پلیمری، تاثیر عوامل خارجی مؤثر در اختلال در عملکرد آن کاهش یافته و میکروارگانیسم با حفظ فعالیت متابولیکی خود، برای مدت زمان بیشتری زنده باقی می‌ماند (Locatelli et al., 2018; Balla et al., 2022). علاوه بر این، به سبب ویژگی‌های مواد دیواره کپسول، سلول‌های محصور شده می‌توانند از طریق رشد یا تجزیه تدریجی دیواره، به آهستگی آزاد شوند که این موضوع به استقرار بهتر در خاک، ریشه گیاه یا برگ و افزایش دوام پس از مصرف کمک می‌کند، منجر به کاهش دفعات کاربرد عامل مهار زیستی می‌شود (Vemmer & Patel, 2013). کاربرد پلیمرهای زیست‌سازگار و زیست‌تخریب‌پذیر به عنوان حامل یا دیواره از دیگر مزایای فرمولاسیون‌های کپسوله محسوب می‌شود (Poletto et al., 2008; Martínez-Cano et al., 2022).

در فرآیند کپسوله کردن میکروارگاناسم‌ها، روش ژلاسیون یونی به دلیل سهولت، عدم استفاده از حلال‌های آلی و کنترل مناسب، یکی از پرکاربردترین روش‌ها است (Maestrelli et al. 2008). در این فرایند، میکروارگاناسم‌ها با محلول‌های پلیمری زیست‌تخریب‌پذیر مانند آلژینات سدیم ترکیب شده و در اثر تعامل با محلول‌های کاتیونی، کپسول‌های کروی و یکنواختی تشکیل می‌شود (Souza et al., 2012; Vemmer & Patel, 2013; Leong et al., 2016). اندازه این کپسول‌ها به شرایط فرآیند بستگی دارد و این روش امکان تولید در مقیاس وسیع با حداقل آسیب به سلول‌ها را فراهم می‌آورد (Rodrigues et al., 2012). کیفیت و عملکرد فرمولاسیون کپسول تا حد زیادی به نوع حامل یا ماده دیواره بستگی دارد و در بین پلیمرهایی که به عنوان حامل استفاده می‌شوند آلژینات سدیم به دلیل زیست‌سازگاری، غیرسمی بودن، هزینه پایین و امکان رهایش تدریجی سلول‌های زنده، به عنوان رایج‌ترین پلیمر حامل در کپسوله‌سازی عوامل مهار زیستی می‌باشد (Huang et al., 2009; Rodrigues et al, 2020).

با توجه به اهمیت توسعه فرمولاسیون‌های اثربخش و اقتصادی برای عوامل مهار زیستی در کشاورزی و تولید تجاری و ضرورت پژوهش‌های بیشتر در این زمینه، این مطالعه با هدف تهیه کپسول‌های حاوی *B. velezensis* با استفاده از آلژینات سدیم، ارزیابی ویژگی‌های کپسول‌ها و مقایسه کارایی مهارکنندگی سویه کپسوله و غیرکپسوله *B. velezensis* علیه قارچ *R. solani* در شرایط گلخانه‌ای بر روی گیاه گوجه‌فرنگی طراحی و اجرا شد.

پیشینه پژوهش

در سال‌های اخیر، استفاده از فرمولاسیون کپسوله در بخش کشاورزی روند رو به رشدی داشته است. بررسی (Wiwattanapatapee et al. 2013) نشان داد *B. megaterium* کپسوله نسبت به تنش حرارتی در مقایسه با حالت غیرکپسوله حساسیت کمتری دارد. طبق بررسی (Ma et al. 2015)، *B. subtilis* میکروکپسوله بقا بیشتری در مقایسه با حالت غیرمیکروکپسول داشت. مطالعه‌ی (Young et al. 2006) نشان داد که باکتری *B. subtilis* به صورت کپسوله‌شده، با حداقل تلفات سلولی، می‌تواند به مدت ۵ ماه زنده بماند. همچنین، (Hernandez-Suarez et al. 2011) گزارش کردند که سویه‌های میکروکپسوله‌شده *B. subtilis* فعالیت مهارکنندگی بالاتری در برابر *R. solani* و *Fusarium oxysporum* از خود نشان می‌دهند. بر اساس نتایج (Kim et al. 2012)، میکروکپسول‌های حاوی *Pantoea agglomerans* پتانسیل کنترل *Erwinia amylovora* را در سیب و گلابی داشتند. (Chen et al. 2013) مشاهده کردند که پوشش‌دهی باکتری *B. cereus* موجب افزایش فعالیت باکتری می‌شود. به علاوه، (Ma et al. 2015) گزارش کردند که ریزپوشانی *B. subtilis* B99-2 مدت ماندگاری باکتری را بالا برده و توانسته است مهار قابل توجهی علیه *R. solani* در گوجه‌فرنگی تحت شرایط مزرعه ایجاد کند. در مطالعه (Pacheco-Aguirre et al. 2016)، اثر ریزپوشانی *B. subtilis* بر کنترل *Meloidogyne incognita* بررسی شد. نتایج نشان داد تلقیح باکتری به صورت کپسوله، نسبت به شاهد، کاهش چشمگیری در تعداد گال و تخم‌های این نماتد به همراه دارد، در حالی که این اثر در باکتری غیرکپسوله مشاهده نشد. علاوه بر این، (He et al. 2016) گزارش کردند که *Pseudomonas putida* Rs-198 کپسوله‌شده با نرخ بقاء بالاتر به خوبی روی ریشه پنبه مستقر می‌شود. بررسی (Luo et al. 2019) نشان داد میکروکپسول‌های آلژینات سدیم حاوی *B. velezensis* NH-1 در افزایش کارایی مهار زیستی بیماری پژمردگی فوزاریومی در خیار به طور چشمگیری موثرند. فرمولاسیون میکروکپسوله *B. velezensis* توانست شدت بیماری ناشی از *Phytophthora drechsleri* را کاهش دهد و شاخص‌های رشد گیاه را بهبود بخشد. نتایج حاصل نشان داد که ترکیب هم‌افزای باکتری‌های مفید با نانوذرات در یک ماتریس زیست‌پلیمری نه تنها اثر بازدارندگی قوی علیه بیمارگر ایجاد می‌کند، بلکه پایداری و بقا بالای میکروارگاناسم‌ها را در شرایط انبارداری بلندمدت تضمین کرده و می‌تواند به عنوان رویکردی پایدار و کارآمد در مدیریت زیستی بیماری‌های گیاهی مورد استفاده قرار گیرد (Moradi Pour et al., 2022). طبق بررسی (Zheng et al. 2022)، *B. pumilus* کپسوله‌شده می‌تواند رشد گیاه و حاصلخیزی خاک را در شرایط خشکی و خاک شور بهبود بخشد. بررسی

Kang et al. (2024) نشان داد *B. velezensis* ZF481 کپسوله شده به طور قابل توجهی بقای باکتری و کارایی مهار زیستی را در مقابله با *Plasmodiophora brassicae* نسبت به کشت مستقیم باکتری افزایش می دهد.

روش شناسی پژوهش

تهیه جدایه عامل مهار زیستی و قارچ بیمارگر

در این پژوهش جدایه *B. velezensis* gaubio96 و قارچ بیمارگر *R. solani* از کلکسیون قارچ های گروه گیاه پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تهیه شد.

تهیه سوسپانسیون باکتری *B. velezensis*

برای تهیه سوسپانسیون باکتری، یک لوپ از کشت ۲۴ ساعته آن روی محیط نوترینت آگار به فلاسک هایی دارای محیط نوترینت براث منتقل شد. فلاسک ها بر روی شیکر با دور ۱۲۰ دور در دقیقه در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. سپس محیط کشت برای جداسازی سلول های باکتریایی به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. رسوب حاصل، دو مرتبه با محلول نمکی (۰/۸۵ درصد) شست و شو گردید. میزان جمعیت باکتری با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر بوده است و شمارش کلنی به روش تهیه سری رقت، به میزان $10^8 \times 8$ سلول باکتری در هر میلی لیتر برآورد شد (McFarland, 1907; Khimmakthong et al., 2020).

تهیه کپسول

کپسول های حاوی *B. velezensis* بر اساس روش ژلاسیون یونی و با اندکی تغییر تهیه شدند (Wu et al., 2011). بدین منظور، پس از آماده سازی سوسپانسیون باکتری، دو گرم آلزینات سدیم (A2033, Sigma-Aldrich) به ۱۰۰ میلی لیتر از سوسپانسیون سلولی افزوده و تحت همزدن مداوم ترکیب گردید تا محلول ۲ درصد آلزینات سدیم حاوی باکتری حاصل شود. مخلوط به مدت یک ساعت با استفاده از همزن مغناطیسی همگن شد. سپس محلول آلزینات-باکتری به وسیله سرنگ به درون محلول ۰/۱ مولار کلرید کلسیم (CaCl_2 , Sigma-Aldrich) ریخته شد. پس از ۲ ساعت، کپسول های تشکیل شده از محلول جدا شده و چندین بار با آب مقطر استریل شسته شدند. نگهداری کپسول های حاصله در ظروف شیشه ای استریل و دمای ۴ درجه سلسیوس بوده است. بخشی از کپسول ها نیز تا رسیدن به وزن ثابت خشک شدند تا با نمونه های مرطوب مقایسه شوند. همچنین، کپسول های آلزینات سدیم بدون باکتری به روش مشابه و بدون افزودن سوسپانسیون باکتری تهیه شدند تا به عنوان شاهد در مقایسه با کپسول های حاوی باکتری به کار روند.

اندازه گیری و ریخت شناسی کپسول ها

برای ارزیابی، حدود ۶۰۰ کپسول مرطوب و خشک (شامل نمونه های حاوی باکتری و بدون باکتری) به صورت تصادفی انتخاب شدند و قطر متوسط آنها با استفاده از استریومیکروسکوپ و به روش میکرومتری اندازه گیری شد.

برآورد جمعیت باکتری درون کپسول ها

برای آزاد سازی سلول های باکتری، تعدادی کپسول در هاون چینی استریل حاوی محلول سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد به طور کامل آسیاب و له شدند. پس از انجام رقت سازی، از هر رقت ۱۰۰ میکرولیتر بر سطح محیط کشت نوترینت آگار انتقال داده شد. تشتک های پتری به مدت ۲۴ ساعت در دمای 28 ± 2 درجه سلسیوس نگهداری شدند. سپس، تعداد کلنی های تشکیل شده به عنوان واحدهای تشکیل دهنده کلنی (CFU) در هر کپسول شمارش^۱ و ثبت گردید (Tu et al., 2015). کارایی پوشش دهی به عنوان تعداد سلول های زنده بارگذاری شده درون هر کپسول تعریف شده و بر اساس فرمول ارائه شده توسط Wu et al. (2014) (رابطه ۱) محاسبه گردید:

$$\text{Encapsulation efficiency (\%)} = (N_0 - N_u)/N_0 \times 100 \quad \text{رابطه (۱)}$$

در این رابطه، N_u تعداد سلول‌های بارگذاری نشده و N_0 تعداد کل سلول‌های زنده استفاده شده در فرآیند پوشش‌دهی (CFU/ml) می‌باشد.

بررسی فعالیت مهارکنندگی در شرایط درون شیشه‌ای

به منظور بررسی فعالیت مهارکنندگی *B. velezensis* بر علیه *R. solani* از آزمون‌های کشت متقابل (Dennis & Webster, 1971c)، تاثیر ترکیبات فرار (Dennis & Webster, 1971b) و تاثیر ترکیبات غیر فرار (Dennis & Webster, 1971a) استفاده شد و درصد بازدارندگی با استفاده از فرمول آبوت تعیین گردید (رضوی و همکاران، ۱۴۰۰).

بررسی ماندگاری سلول‌های باکتری در کپسول

به منظور ارزیابی اثر دما بر پایداری باکتری‌ها در حالت کپسول و غیرکپسول، کپسول‌های خشک و مرطوب تهیه شده، همچنین سوسپانسیون سلول باکتری، در دماهای ۵، ۲۵ و ۳۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. طی بازه‌های زمانی مشخص (۱۵ روز یکبار)، نمونه‌ها بر روی محیط کشت نوترینت‌آگار کشت داده شدند تا قابلیت زنده‌مانی آن‌ها بررسی شود. پس از شمارش کلنی‌ها، درصد زنده‌مانی سلول‌ها نسبت به جمعیت اولیه (پیش از قرارگیری در شرایط دمایی مختلف) محاسبه گردید (Tu et al., 2015; Maruyama et al., 2020).

تهیه زادمایه بیمارگر و خاک آلوده

برای آماده‌سازی زادمایه قارچ بیمارگر، ابتدا دانه‌های سالم گندم به مدت یک شب در آب خیسانده شدند. پس از خارج کردن آب اضافی، ۳۰۰ گرم از دانه‌ها در ارلن‌های یک لیتری ریخته شده و در دو روز متوالی، به مدت ۴۵ دقیقه و در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس اتوکلاو شدند. سپس شش دیسک ۵ میلی‌متری از حاشیه پرگنه فعال قارچ *R. solani* (کشت چهار روزه) به هر ارلن اضافه گردید. برای تکمیل رشد قارچ بر روی دانه‌های گندم، ارلن‌ها به مدت ۳ تا ۴ هفته در دمای 27 ± 2 درجه سلسیوس نگهداری شدند. در نهایت، زادمایه حاصل با خاک استریل به میزان ۵ درصد مخلوط شد (رضوی و همکاران، ۱۴۰۰).

کاشت بذر گوجه‌فرنگی و مایه‌زنی با باکتری به منظور بررسی قابلیت مهارکنندگی در شرایط گلخانه

بذرهای گوجه‌فرنگی رقم سوپرچف پس از ضدعفونی در محلول یک درصد هیپوکلریت، شست‌وشو با آب مقطر استریل و خشک شدن، در گلدان‌های حاوی مخلوط خاک استریل (بافت خاک به صورت لومی-رُس) و زادمایه بیمارگر کاشته شدند. سپس غلظت‌های متفاوتی از *B. velezensis* در دو شکل کپسوله (1×10^3 ، 5×10^3 ، 1×10^4) و غیرکپسوله (CFU/ml) 1×10^3 ، 5×10^3 ، 1×10^4 به هر بذر افزوده شد و در هر گلدان پنج بذر کاشته شد. پس از گذشت یک ماه و بروز علائم بیماری، شاخص‌های رشدی گیاه شامل ارتفاع، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه اندازه‌گیری و درصد بروز بیماری محاسبه گردید.

سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز با استفاده از H_2O_2 (هیدروژن پروکساید) و فنیل‌دی‌آمین بر اساس تغییرات جذب نور در طول موج ۴۸۵ نانومتر بوده است (Karthikeyan et al., 2006). در این روش نمونه عصاره آنزیمی با محلول فنیل‌دی‌آمین (به‌عنوان سوبسترا) و محلول هیدروژن پروکساید مخلوط گردید و تغییرات جذب نوری در طول موج ۴۸۵ نانومتر در بازه زمانی مشخص با دستگاه اسپکتروفتومتر ثبت شد. میزان تغییر جذب در واحد زمان به عنوان شاخص فعالیت آنزیم محاسبه گردید.

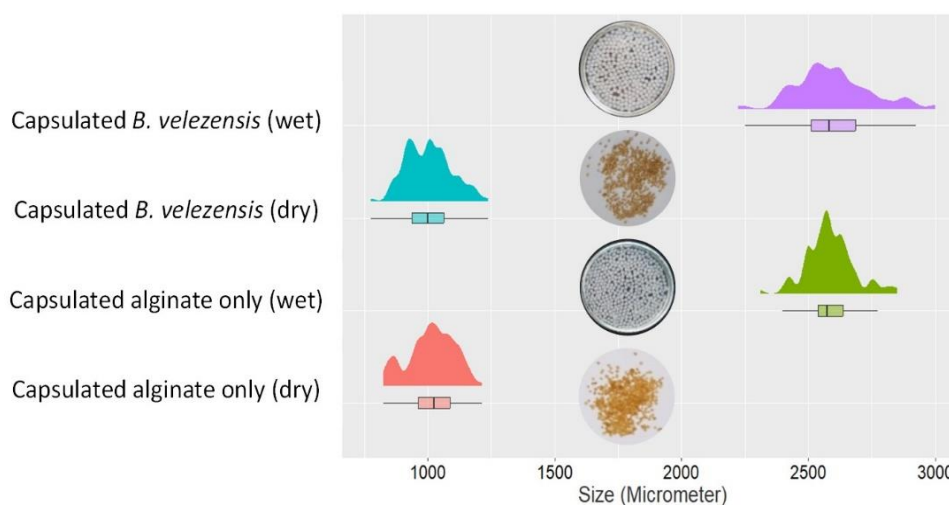
تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار R.4.5.1 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها با بهره‌گیری از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد.

یافته های پژوهش

ویژگی های کپسول ها و برآورد جمعیت باکتری

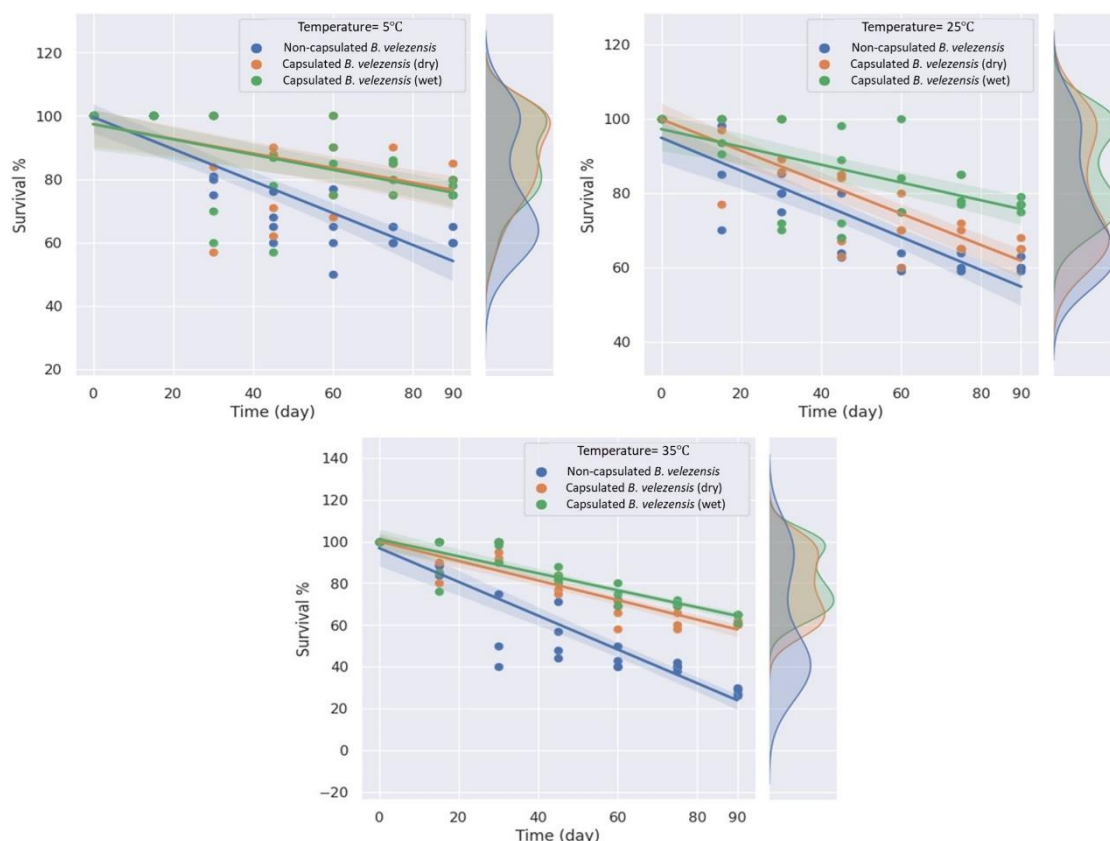
ویژگی های ظاهری و نمودار توزیع اندازه کپسول ها به همراه میانگین و دامنه تغییرات اندازه آن ها در کپسول مرطوب و خشک (شامل نمونه های حاوی باکتری و بدون باکتری) در شکل ۱ نشان داده است. کپسول های مرطوب دارای شکلی تقریباً کروی با رنگ سفید شفاف و میانگین قطر ۲۶۰۰ میکرومتر بودند، در حالی که کپسول های خشک شده ظاهری چروکیده و رنگ زرد داشته و قطر آن ها حدود ۱۰۰۰ میکرومتر اندازه گیری شد. همچنین میانگین تعداد سلول های *B. velezensis* در هر گرم کپسول $10^5 \times 2/45$ و بازده کپسولاسیون ۹۹ درصد برآورد گردید.



شکل ۱. ویژگی های ظاهری و توزیع اندازه کپسول های مرطوب و خشک *B. velezensis* و آلژینات سدیم.

تاثیر دما بر ماندگاری سلول های باکتری در کپسول

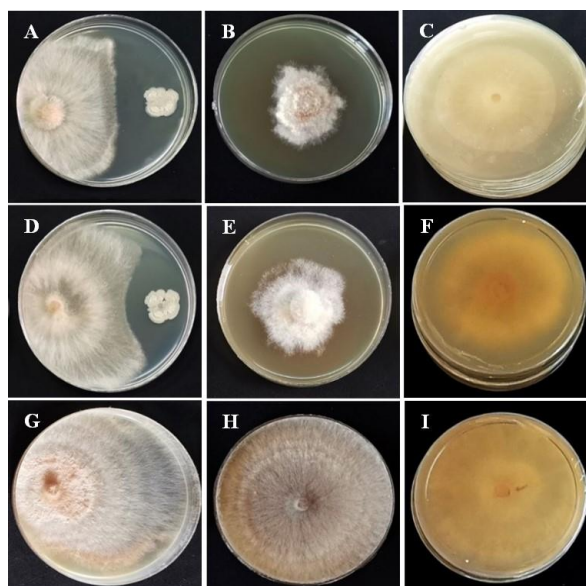
بر اساس یافته های مربوط به زنده ماندن سلول های باکتری در کپسول ها تحت شرایط دمایی و زمانی مختلف، کپسوله کردن موجب بهبود قابل توجه مقاومت *B. velezensis* در برابر دما در مقایسه با حالت غیر کپسوله شد و درصد زنده ماندن *B. velezensis* در کپسول های خشک و مرطوب، در دماها و دوره های زمانی مختلف بیشتر از سلول های آزاد بوده است (شکل ۲). با این حال، در شرایط غیر کپسوله، درصد زنده ماندن پس از ۹۰ روز نگهداری در دماهای ۲۵ و ۳۵ درجه سلسیوس به ترتیب ۴۲ و ۴۷ درصد کاهش یافت. در مقابل، کاهش درصد زنده ماندن برای *B. velezensis* کپسوله شده در شرایط زمانی و دمایی مشابه به ترتیب ۱۶/۵ و ۲۶ درصد بود. به طور کلی، این نتایج نشان دهنده تاثیر مثبت فرمولاسیون کپسول بر ماندگاری *B. velezensis* در دماهای ۲۵ و ۳۵ درجه سلسیوس است، در حالی که دمای ۵ درجه سلسیوس به عنوان گزینه ای مطلوب تر برای نگهداری طولانی مدت پیشنهاد می شود.



شکل ۲. درصد زنده‌مانی *B. velezensis* در حالت کپسول خشک، مرطوب و غیرکپسول طی ۹۰ روز نگهداری در دمای ۵، ۲۵ و ۳۵ درجه سلسیوس.

بررسی فعالیت مهارکنندگی در شرایط درون شیشه‌ای

فعالیت مهارکنندگی *B. velezensis* بر علیه *R. solani* در شرایط درون شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفت و درصد بازدارندگی باکتری در حالت غیرکپسوله برای آزمون کشت متقابل، تاثیر ترکیبات فرار و تاثیر ترکیبات غیرفرار به ترتیب ۵۹/۲۸، ۳۶ و ۵۴/۳۳ درصد برآورد گردید و به طور مشابه برای باکتری کپسوله به ترتیب ۴۰، ۱۹ و ۳۶ درصد بود (شکل ۳).



شکل ۳. تاثیر آزمون کشت متقابل، تاثیر ترکیبات غیر فرار و تاثیر ترکیبات فرار *B. velezensis* (A، B و C) غیرکپسوله (D، E و F) و شاهد (G، H و I) بر رشد *R. solani* در شرایط درون شیشه‌ای.

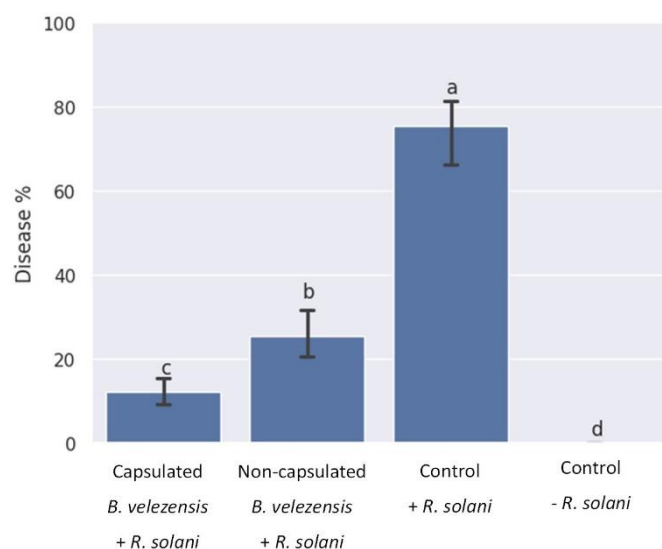
بررسی فعالیت مهارکنندگی در شرایط گلخانه‌ای

نتایج آزمایش‌های گلخانه‌ای نشان داد که تیمار گیاهان با باکتری منجر به کاهش قابل توجه در درصد بیماری نسبت به شاهد شد (جدول ۱). درصد بیماری در گیاهان تیمار شده با باکتری کپسوله ۴/۴۴ درصد و در شاهد ۷۳/۳۳ درصد برآورد گردید. همچنین، استفاده از فرمولاسیون کپسوله *B. velezensis* نسبت به حالت غیر کپسوله، کاهش بیشتری در درصد بیماری ایجاد کرد (شکل ۴ و ۵). بررسی شاخص‌های رشد نشان داد که گیاهان تیمار شده با *B. velezensis* کپسوله در مقایسه با شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند. در مقایسه تاثیر انواع فرمولاسیون‌های *B. velezensis* (کپسوله، غیر کپسوله) تنها در ارتفاع ریشه و ساقه اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول ۲).

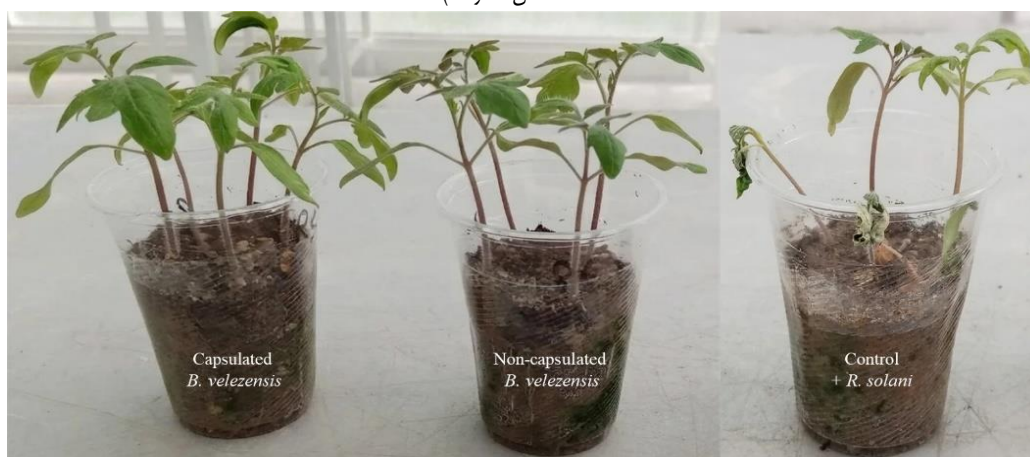
جدول ۱. تجزیه و تحلیل واریانس تاثیر *B. velezensis* کپسوله و غیر کپسوله بر درصد بیماری *R. solani*.

Source of variation	df	Mean of Squares	F
Treatment	2	5403	23.639***
Concentration	2	22	0.097
Treatment × Concentration	4	22	0.097
Residuals	14	229	

***= $p \leq 0.001$



شکل ۴. تاثیر *B. velezensis* کپسوله و غیر کپسوله بر درصد بیماری *R. solani*. ستون‌ها با حروف غیرمشابه دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند (آزمون دانکن ۵ درصد).



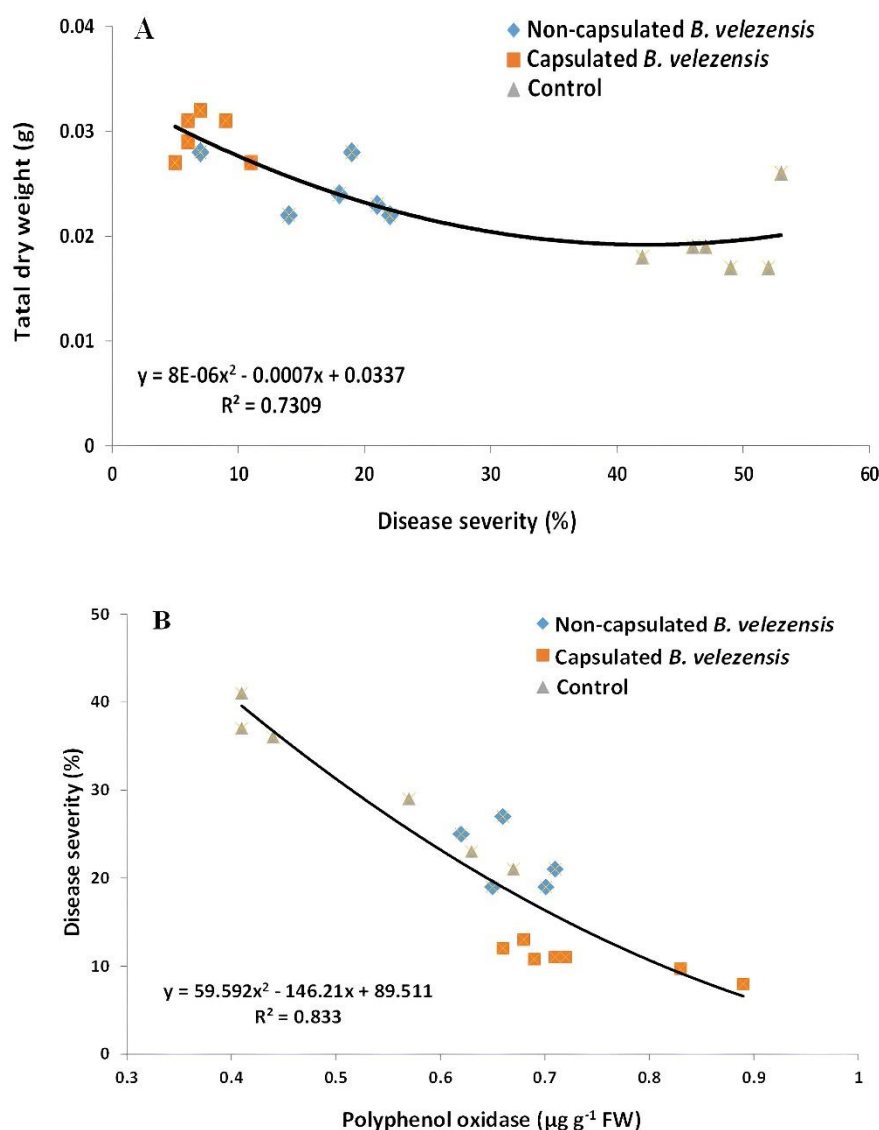
شکل ۵. تاثیر گیاهان تیمار شده با *B. velezensis* کپسوله و غیر کپسوله در حضور *R. solani*.

جدول ۲. مقایسه میانگین شاخص‌های رشدی در گیاه گوجه‌فرنگی در حضور بیمارگر و *B. velezensis*. (باکتری کپسوله = BV.m، غیر کپسوله = BV.n و کپسول‌های سدیم آلزینات به تنهایی = Alg).

Treatment	Shoot height (cm)	Root height (cm)	Shoot fresh weight (g)	Root fresh weight (g)	Shoot dry weight (g)	Root dry weight (g)
Control						
- <i>R.solani</i>	4.22 ^{c*}	3.94 ^{bc}	0.13 ^b	0.036 ^c	0.010 ^c	0.0040 ^b
+ <i>R.solani</i>	4.35 ^{bc}	3.47 ^c	0.15 ^b	0.038 ^c	0.011 ^{bc}	0.0030 ^b
BV.m						
+ <i>R.solani</i>	5.67 ^a	5.63 ^a	0.24 ^a	0.11 ^a	0.019 ^a	0.0097 ^a
BV.n						
+ <i>R.solani</i>	5.06 ^b	4.70 ^b	0.21 ^{ab}	0.089 ^{ab}	0.017 ^{ab}	0.0065 ^{ab}
Alg						
+ <i>R.solani</i>	5.19 ^{ab}	4.23 ^{bc}	0.20 ^{ab}	0.060 ^{bc}	0.017 ^{abc}	0.0058 ^{ab}

* Columns with common letter(s) are not significant (Duncan test, $p \leq 0.05$).

سطح آنزیم‌های دفاعی در گیاهان تیمار شده با *B. velezensis* کپسوله نسبت به *B. velezensis* غیر کپسوله و شاهد به ترتیب ۱۰/۳۲ - ۱۴/۲۵ و ۳۱/۶۶ - ۱۱/۲۷ درصد افزایش داشت. مقدار سطح آنزیم بر بیماری فوق (*R. solani*) تأثیر منفی داشته است و ارتباط دو متغیر به صورت مدل رگرسیونی $Y = 59.592x^2 - 146.21X + 89.511$ با ضریب تعیین ۰/۸۳۳ ($P \leq 0.01$) به دست آمد. همچنین سطح مقدار کل وزن خشک در گیاهان تیمار شده با *B. velezensis* کپسوله نسبت به *B. velezensis* غیر کپسوله و شاهد به ترتیب ۹/۶۸ - ۱۸/۵۱ و ۲۷/۰۴ - ۱۶/۲۱ درصد افزایش داشت. ارتباط بین مقدار کل وزن خشک درصد بیماری به صورت مدل رگرسیونی $Y = 8 \times 10^{-6}x^2 - 0.0007X + 0.0337$ با ضریب تعیین ۰/۷۳۰۹ ($P \leq 0.01$) به دست آمد (شکل ۶).



شکل ۶. ارتباط بین درصد بیماری و مقدار وزن خشک کل (A) و سطح آنزیم های دفاعی با تغییر درصد بیماری در تیمارهای مختلف (B).

بحث

به کارگیری باکتری های PGPR در بخش کشاورزی راهبردی مؤثر برای کاهش مصرف سموم و حرکت به سوی کشاورزی پایدار است (Sharma et al., 2019). با این حال، استقرار PGPR ها روی ریشه گیاه به شدت تحت تاثیر شرایط محیطی و خاک قرار دارد (John et al., 2012; Wu et al., 2012). برای افزایش پایداری و کارایی آن ها، فرمولاسیون های ساده، اقتصادی و سازگار با ویژگی های هر میکروارگانیسم لازم است. برای توسعه یک فرمولاسیون مؤثر، نخست باید عامل مهار زیستی مناسب انتخاب شود و سپس فرمولاسیون براساس ویژگی های آن عامل تدوین گردد. در حقیقت، پس از شناسایی میکروارگانیسم سودمند، انتخاب فرمولاسیون مطلوب نقش کلیدی در حفظ پایداری، اثربخشی و مقاومت عامل مهار زیستی در برابر شرایط نامطلوب محیطی ایفا می کند (Young et al., 2006). کپسوله کردن یا پوشش دهی، یک فناوری پیشرفته برای محافظت و افزایش پایداری سلول های زنده است. در این روش، سلول ها درون یک ماتریس پلیمری قرار می گیرند که آن ها را در برابر شرایط نامطلوب حفظ کرده، بقای طولانی مدت و ماندگاری در زمان نگهداری و کاربرد مزرعه را افزایش می دهد. این فناوری

امکان رهاسازی کنترل شده سلول‌ها در ناحیه ریشه را فراهم کرده و به استقرار بهتر میکروب‌ها در ریزوسفر کمک می‌کند. همچنین PGPRها را در برابر تنش‌های مکانیکی محافظت کرده و کارایی آن‌ها را بهبود می‌بخشد (Kim et al., 2012; Chaudhary et al., 2020). کیفیت و عملکرد فرمولاسیون کپسول تا حد زیادی به نوع حامل یا ماده دیواره بستگی دارد و از میان پلیمرها، آلژینات سدیم به عنوان رایج‌ترین حامل در پوشش‌دهی عوامل مهار زیستی شناخته می‌شود (Martínez-Cano et al., 2022).

در این مطالعه، از روش ژلاسیون یونی برای تهیه *B. velezensis* کپسوله استفاده گردید. توزیع اندازه‌ی کپسول‌ها توسط پژوهشگران متعددی گزارش شده است. به‌طور کلی، اندازه و یکنواختی کپسول‌ها عمدتاً تحت تأثیر عوامل گوناگونی قرار دارد، از جمله: وضعیت مرطوب یا خشک بودن دانه‌ها (Kamouni et al., 2025)، غلظت آلژینات سدیم (Wu et al., 2014)، ویسکوزیته‌ی محلول آلژینات سدیم (Jurić et al., 2019)، اندازه سرنگ یا نازل (Khimmakthong et al., 2020)، غلظت کلسیم کلرید (Jurić et al., 2019)، سرعت جریان محلول و فاصله نازل تا حمام ژل‌سازی (Ouwerx et al., 1998; Blandino et al., 1999) و نیز افزودن مواد پلیمری دیگر (Wu et al., 2014; Tu et al., 2015; Khimmakthong et al., 2020). در شرایط آزمایشی حاضر، کپسول‌های حاصل عمدتاً شکلی کروی داشتند که این یافته با مشاهدات سایر محققین (Wu et al., 2014; Tu et al., 2015) همسو بود. ارزیابی موفقیت فرآیند کپسوله‌سازی میکروارگانیزم‌ها معمولاً بر اساس شاخص‌هایی مانند راندمان کپسولاسیون، میزان بقا، الگوی رهاسازی، سازگاری با ماده حامل و ظرفیت مهار زیستی انجام می‌شود (Adzmi et al., 2021). در این پژوهش، راندمان کپسولاسیون بسیار بالا و در حدود ۹۹ درصد برآورد گردید که از برخی مطالعات انجام شده بیشتر بوده است (Tu et al., 2015).

ماندگاری یکی از مهم‌ترین جنبه‌های تولید تجاری برای فرموله کردن عوامل مهار زیستی به شمار می‌رود. طی دوره ذخیره‌سازی، میزان بقا و زنده‌مانی میکروارگانیزم‌های مختلف کاهش می‌یابد. یافته‌های این پژوهش نشان داد که کپسوله کردن، بقا و پایداری *B. velezensis* را در دماهای ۲۵ و ۳۵ درجه سلسیوس نسبت به حالت غیر کپسوله به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌دهد، هرچند دمای ۵ درجه سلسیوس شرایط بهتری را برای نگهداری طولانی‌مدت فراهم می‌کند. بر اساس گزارش He et al. (2016)، سویه *P. putida* Rs-198 به صورت کپسوله از نرخ زنده‌مانی بالاتری برخوردار بود. همچنین، Young et al. (2006) نیز قابلیت بالای زنده‌مانی *B. subtilis* کپسوله را با حداقل تلفات سلول تا مدت پنج ماه گزارش کرده‌اند. مقایسه ویژگی‌های کپسول‌های خشک و مرطوب *B. velezensis* در این مطالعه نشان داد که تفاوت معنی‌داری میان آن‌ها وجود ندارد و هر دو نوع کپسول محافظت موثری در برابر تغییرات دما ایجاد می‌کنند. با این حال، از دیدگاه تجاری، انتخاب کپسول‌های خشک مناسب‌تر است که این امر به سهولت ذخیره‌سازی و کاربرد آن‌ها نسبت داده می‌شود.

نتایج آزمایش گلخانه‌ای نشان داد که استفاده از فرمولاسیون کپسوله *B. velezensis* درصد بروز بیماری را نسبت به تیمار *B. velezensis* غیر کپسوله به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. همچنین، بیشترین بهبود در شاخص‌های رشد گیاهان تیمار شده به ارتفاع ریشه و ساقه مربوط بود. این یافته‌ها با نتایج Kang et al. (2024) که نشان دادند پوشش‌دهی *B. velezensis* ZF481 بقای باکتری و کارایی مهار زیستی را در مقابله با *P. brassicae* نسبت به حالت غیر کپسوله به‌طور قابل توجهی افزایش می‌دهد، همخوانی دارد. همچنین (Luo et al., 2019) گزارش کردند میکروکپسول‌های آلژینات سدیم حاوی *B. velezensis* NH-1، کارایی مهار زیستی بیماری پژمردگی فوزاریومی در خیار را به طور چشمگیری افزایش دادند. فرمولاسیون میکروکپسوله *B. velezensis* توانست به طور موثر شدت بیماری ناشی از *P. drechsleri* را کاهش دهد و شاخص‌های رشد گیاه را بهبود بخشد. افزایش معنی‌دار طول ریشه و ساقه در تیمار کپسوله نسبت به شاهد را می‌توان به رهاسازی تدریجی و کنترل شده باکتری از ماتریس آلژینات نسبت داد. (He et al., 2016) نیز مکانیسم مشابهی را برای *P. putida* Rs-198 کپسوله در افزایش زیست‌توده پنبه تنش شوری پیشنهاد کردند و آن را ناشی از حفاظت، رهاسازی تدریجی و استقرار کارآمدتر آن روی ریشه دانستند. (Tu et al., 2015) نیز اثر مثبت *B. subtilis* SL-13 میکروکپسوله را بر افزایش درصد جوانه‌زنی بذر، بهبود رشد و طول ریشه گزارش کردند. نتایج مطالعه حاضر این فرضیه را تأیید می‌کند که کپسوله کردن با ایجاد یک محیط

محافظتی، امکان استقرار بهتر باکتری در ریزوسفر و در نتیجه تحریک مؤثرتر رشد گیاه را فراهم می آورد. کاهش قابل توجه درصد بروز بیماری رایزوکتونایی در تیمار کپسوله در مقایسه با فرم غیر کپسوله، اهمیت حفاظت از سلول های باکتریایی در برابر تنش های محیطی را نشان می دهد. این نتیجه با یافته های (Ma et al., 2015) که نشان دادند *B. subtilis* B99-2 میکروکپسوله توان مهار بالاتری در برابر *R. solani* در مزرعه گوجه فرنگی داشته است، مطابقت دارد. نتایج پژوهش حاضر نشان می دهد که فرمولاسیون کپسوله *B. velezensis* می تواند به عنوان یک ترکیب زیستی دمنظوره عمل کند: هم به عنوان عامل مهار زیستی بیماری و هم به عنوان محرک رشد گیاه. این ویژگی دوگانه پیش تر توسط Hernandez-Suarez et al. (2011) برای *B. subtilis* میکروکپسوله در کاهش خسارت ناشی از *R. solani* و *F. oxysporum* همراه با بهبود رشد گوجه فرنگی گزارش شده است.

گیاهان با تغییر مسیر برخی از فرآیندهای متابولیسمی از پیشرفت آلودگی ممانعت کرده و مقاومت در مقابل تنش را افزایش می دهند (Shiade et al., 2024). در این رابطه، گونه های مختلف *Bacillus* عوامل بیماری زا را به طور مستقیم با تغییر در میزان هورمون ها، افزایش ترکیب های ضد میکروبی و سنتز پروتئین های مرتبط با بیماری زایی یا به طور غیرمستقیم با تحریک مقاومت سیستمیک تحت تاثیر قرار می دهند (Miljaković et al., 2020; Zhong et al., 2024). یکی از سازوکارهای مهم در مقاومت گیاه در زمان تنش های زیستی تجمع و اکسید ترکیبات فنولی و افزایش فعالیت اکسیدانی می باشد. با توجه به تضعیف سیستم ایمنی گیاه در حین تنش های محیطی، افزایش ترکیبات فنولی و فعالیت اکسیدانی واکنش های دفاعی مناسبی را در برابر بیمارگرها به وجود می آورند. خنثی سازی رادیکال های آزاد و کاهش گونه های اکسیژن فعال از اثرات مهم این ترکیبات محسوب می شود (Salunke & Koche, 2023; Xu & Wang, 2025). در این بررسی نیز مقدار فعالیت اکسیدانی در گیاهان تیمار شده با *B. velezensis* کپسوله و غیر کپسوله نسبت به گیاهان آلوده افزایش داشت و تجمع فعالیت آنتی اکسیدانی با افزایش مقاومت به بیماری مرگ گیاهچه همراه بوده است.

با توجه به نتایج امیدوارکننده کاربرد فرمولاسیون کپسوله برای بهبود پایداری و افزایش کارایی مهارکنندگی باکتری *B. velezensis* به منظور ارزیابی دقیق تر کارایی این فناوری در شرایط مزرعه ای، شناسایی محدودیت های موجود و ترسیم مسیرهای تحقیقاتی آینده، لازم است مجموعه ای از بررسی های تکمیلی شامل ارزیابی پایداری بلندمدت، الگوهای رهایش، تعاملات ریزوسفری، و تحلیل های عملکردی در مقیاس مزرعه انجام شود.

نتیجه گیری

یافته های این پژوهش نشان می دهد که به کارگیری فرمولاسیون کپسوله *B. velezensis*، ماندگاری و زنده مانگی باکتری را در مقایسه با فرم غیر کپسوله به طور قابل ملاحظه ای افزایش می دهد. به طوری که درصد زنده مانگی *B. velezensis* کپسوله بعد از ۹۰ روز قرارگیری در دماهای ۲۵ و ۳۵ درجه سلسیوس به ترتیب ۵۸ و ۵۳ درصد برآورد گردید که نقش مثبت کپسول ها در افزایش زنده مانگی و مقاومت *B. velezensis* نسبت به حالت غیر کپسول را نشان می دهد. علاوه بر این فرمولاسیون کپسوله به ارتقاء توان باکتری در مهارکنندگی بیمارگر منجر می شود. در این خصوص درصد بیماری در گیاهان تیمار شده با باکتری کپسوله ۴/۴۴ درصد و در شاهد ۷۳/۳۳ درصد برآورد گردید. بنابراین، نتایج به دست آمده اطلاعات ارزشمندی در خصوص کاربرد عملی قارچ کش های میکروبی مبتنی بر فرمولاسیون کپسوله ارائه کرده و چشم انداز روشنی از استفاده *B. velezensis* کپسوله به عنوان جایگزینی موثر در مهار زیستی بیمارگرها برای کاهش وابستگی به سموم شیمیایی ترسیم می کند.

هیچگونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد.

منابع

رضوی، س.ا.، صانعی، س.ج.، شربت‌خواری، م.و. و قربانی نصرآبادی، ر. ۱۴۰۰. ردیابی و جداسازی قارچ‌ها و شبه‌قارچ‌های خاک. انتشارات پیک ریحان گرگان، ۳۸۴ صفحه.

REFERENCES

- Abbas, M. M., Ismael, W. H., Mahfouz, A. Y., Daigham, G. E., & Attia, M. S. (2024). Efficacy of endophytic bacteria as promising inducers for enhancing the immune responses in tomato plants and managing Rhizoctonia root-rot disease. *Scientific Reports*, 14(1), 1331. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-51000-8>
- Ab Rahman, S. F. S., Singh, E., Pieterse, C. M., & Schenk, P. M. (2018). Emerging microbial biocontrol strategies for plant pathogens. *Plant Science*, 267, 102-111. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.11.012>
- Adzmi, F., Musa, M. H., Siddiqui, Y., Yun, W. M., Hamid, H. A., Abdu, A., & Abiri, R. (2021). Development of alginate-montmorillonite-starch with encapsulated *Trichoderma harzianum* and evaluation of conidia shelf life. DOI: [10.17957/IJAB/15.1812](https://doi.org/10.17957/IJAB/15.1812)
- Balla, A., Silini, A., Cherif-Silini, H., Chenari Bouket, A., Alenezi, F. N., & Belbahri, L. (2022). Recent advances in encapsulation techniques of plant growth-promoting microorganisms and their prospects in the sustainable agriculture. *Applied Sciences*, 12(18), 9020. DOI: [10.3390/app12189020](https://doi.org/10.3390/app12189020)
- Blandino, A., Macias, M., & Cantero, D. (1999). Formation of calcium alginate gel capsules: influence of sodium alginate and CaCl₂ concentration on gelation kinetics. *Journal of bioscience and bioengineering*, 88(6), 686-689. DOI: [10.1016/s1389-1723\(00\)87103-0](https://doi.org/10.1016/s1389-1723(00)87103-0)
- Calabi-Floody, M., Medina, J., Rumpel, C., Condron, L. M., Hernandez, M., Dumont, M., & de La Luz Mora, M. (2018). Smart fertilizers as a strategy for sustainable agriculture. *Advances in Agronomy*, 147, 119-157. DOI: [10.1016/bs.agron.2017.10.003](https://doi.org/10.1016/bs.agron.2017.10.003)
- Chaudhary, T., Dixit, M., Gera, R., Shukla, A. K., Prakash, A., Gupta, G., & Shukla, P. (2020). Techniques for improving formulations of bioinoculants. *3 Biotech*, 10(5), 199. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02182-9>
- Chen, K. N., Chen, C. Y., Lin, Y. C., & Chen, M. J. (2013). Formulation of a novel antagonistic bacterium based biopesticide for fungal disease control using microencapsulation techniques. *Journal of Agricultural Science*, 5(3), 153. DOI: [10.5539/jas.v5n3p153](https://doi.org/10.5539/jas.v5n3p153)
- Dennis, C., & Webster, J. (1971a). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: I. Production of non-volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, 57(1), 25-IN3. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(71\)80077-3](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(71)80077-3)
- Dennis, C., & Webster, J. (1971b). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: II. Production of volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, 57: 41-48. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(71\)80078-5](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(71)80078-5)
- Dennis, C. and Webster, J. 1971c. Antagonistic properties of species – groups of *Trichoderma* III. Hyphal interactions. *Transactions of the British Mycological Society*. 57: 363-369. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(71\)80050-5](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(71)80050-5)
- Erba, D., Casiraghi, M. C., Ribas-Agustí, A., Cáceres, R., Marfà, O., & Castellari, M. (2013). Nutritional value of tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) grown in greenhouse by different agronomic techniques. *Journal of Food Composition and Analysis*, 31(2), 245-251. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.05.014>
- He, Y., Wu, Z., Ye, B. C., Wang, J., Guan, X., & Zhang, J. (2016). Viability evaluation of alginate-encapsulated *Pseudomonas putida* Rs-198 under simulated salt-stress conditions and its effect on cotton growth. *European Journal of Soil Biology*, 75, 135-141. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2016.05.002>
- Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I., & Monte, E. (2012). Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*, 158(1), 17-25. <https://doi.org/10.1099/mic.0.052274-0>

- Hernandez-Suarez, M., Hernandez-Castillo, F. D., Gallegos-Morales, G., Lira-Saldivar, R. H., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2011). Biocontrol of soil fungi in tomato with microencapsulates containing *Bacillus subtilis*. 189-195. DOI: [10.3844/ajabssp.2011.189.195](https://doi.org/10.3844/ajabssp.2011.189.195)
- Huang, W., Wang, Y., Ren, L., Du, C., & Shi, X. (2009). A novel PHBV/HA microsphere releasing system loaded with alendronate. *Materials Science and Engineering: C*, 29(7), 2221-2225. DOI: [10.1016/j.msec.2009.05.015](https://doi.org/10.1016/j.msec.2009.05.015)
- John, R. P., Tyagi, R. D., Brar, S. K., Surampalli, R. Y., & Prévost, D. (2011). Bio-encapsulation of microbial cells for targeted agricultural delivery. *Critical Reviews in Biotechnology*, 31(3), 211-226. DOI: [10.3109/07388551.2010.513327](https://doi.org/10.3109/07388551.2010.513327)
- Kamouni, A., Idali, N., Brik, A., Qayouh, H., Dihazi, A., Vinceković, M., ... & Lahcini, M. (2025). Encapsulation of *Beauveria bassiana* conidia in carboxymethylcellulose beads: Advancing UV protection and thermal resilience in bioinsecticide applications. *International journal of biological macromolecules*, 148225. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2025.148225>
- Kang, H., Fan, T., Shi, Y., Xie, X., Li, L., Xiang, S., ... & Chai, A. (2024). Encapsulation of *Bacillus velezensis* and its biocontrol efficiency against *Plasmodiophora brassicae* in Chinese cabbage. *Scientia Horticulturae*, 337, 113473. DOI: [10.1016/j.scienta.2024.113473](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2024.113473)
- Karthikeyan, M., Radhika, K., Mathiyazhagan, S., Bhaskaran, R., Samiyappan, R., & Velazhahan, R. (2006). Induction of phenolics and defense-related enzymes in coconut (*Cocos nucifera* L.) roots treated with biocontrol agents. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18, 367. DOI: [10.1590/S1677-04202006000300003](https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000300003)
- Khedher, S. B., Mejdoub-Trabelsi, B., & Tounsi, S. (2021). Biological potential of *Bacillus subtilis* V26 for the control of Fusarium wilt and tuber dry rot on potato caused by Fusarium species and the promotion of plant growth. *Biological Control*, 152, 104444. DOI: [10.1016/j.biocontrol.2020.104444](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104444)
- Khalil, A. M. A., Hashem, A. H., & Abdelaziz, A. M. (2019). Occurrence of toxigenic *Penicillium polonicum* in retail green table olives from the Saudi Arabia market. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21, 101314. DOI: [10.1016/j.bcab.2019.101314](https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101314)
- Khimmakthong, U., Khumpouk, P., Saichanaphan, N., Intarasin, Y., & Tirawanichakul, K. (2020). The efficiency of microencapsulation with alginate, gelatin, and chitosan on the survival of *Bacillus subtilis*. *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences*, 19(4), 684-701. DOI: [10.12982/CMUJNS.2020.0044](https://doi.org/10.12982/CMUJNS.2020.0044)
- Kim, I. Y., Pusey, P. L., Zhao, Y., Korban, S. S., Choi, H., & Kim, K. K. (2012). Controlled release of *Pantoea agglomerans* E325 for biocontrol of fire blight disease of apple. *Journal of Controlled Release*, 161(1), 109-115. DOI: [10.1016/j.jconrel.2012.03.028](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.03.028)
- Locatelli, G. O., dos Santos, G. F., Botelho, P. S., Finkler, C. L. L., & Bueno, L. A. (2018). Development of *Trichoderma* sp. formulations in encapsulated granules (CG) and evaluation of conidia shelf-life. *Biological Control*, 117, 21-29. DOI: [10.1016/j.biocontrol.2017.08.020](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.08.020)
- Lopes, M. M., de Oliveira-Paiva, C. A., & Farinas, C. S. (2023). Modification of pectin/starch-based beads with additives to improve *Bacillus subtilis* encapsulation for agricultural applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 246, 125646. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2023.125646](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125646)
- Lotfalinezhad, E., Taheri, A., Razavi, S. E., & Sanei, S. J. (2024). Preparation and assessment of alginate-microencapsulated *Trichoderma harzianum* for controlling *Sclerotinia sclerotiorum* and *Rhizoctonia solani* on tomato. *International Journal of Biological Macromolecules*, 259, 129278. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2024.129278](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129278)
- Luo, W., Liu, L., Qi, G., Yang, F., Shi, X., & Zhao, X. (2019). Embedding *Bacillus velezensis* NH-1 in microcapsules for biocontrol of cucumber Fusarium wilt. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(9), e03128-18. doi: [10.1128/AEM.03128-18](https://doi.org/10.1128/AEM.03128-18)
- Ouwerx, C., Velings, N., Mestdag, M. M., & Axelos, M. A. (1998). Physico-chemical properties and rheology of alginate gel beads formed with various divalent cations. *Polymer Gels and Networks*, 6(5), 393-408. [https://doi.org/10.1016/S0966-7822\(98\)00035-5](https://doi.org/10.1016/S0966-7822(98)00035-5)

- Ma, X., Wang, X., Cheng, J., Nie, X., Yu, X., Zhao, Y., & Wang, W. (2015). Microencapsulation of *Bacillus subtilis* B99-2 and its biocontrol efficiency against *Rhizoctonia solani* in tomato. *Biological Control*, 90, 34-41. DOI: [10.1016/j.biocontrol.2015.05.013](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.05.013)
- Ma, Q., Cong, Y., Feng, L., Liu, C., Yang, W., Xin, Y., & Chen, K. (2022). Effects of mixed culture fermentation of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Trichoderma longibrachiatum* on its constituent strains and the biocontrol of tomato *Fusarium* wilt. *Journal of Applied Microbiology*, 132(1), 532-546. DOI: [10.1111/jam.15208](https://doi.org/10.1111/jam.15208)
- Maestrelli, F., Zerrouk, N., Cirri, M., Mennini, N., & Mura, P. (2008). Microspheres for colonic delivery of ketoprofen-hydroxypropyl- β -cyclodextrin complex. *European journal of pharmaceutical sciences*, 34(1), 1-11. DOI: [10.1016/j.ejps.2008.02.001](https://doi.org/10.1016/j.ejps.2008.02.001)
- Maruyama, C. R., Bilesky-José, N., de Lima, R., & Fraceto, L. F. (2020). Encapsulation of *Trichoderma harzianum* preserves enzymatic activity and enhances the potential for biological control. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 225. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00225>
- Martínez-Cano, B., Mendoza-Meneses, C. J., García-Trejo, J. F., Macías-Bobadilla, G., Aguirre-Becerra, H., Soto-Zarazúa, G. M., & Feregrino-Pérez, A. A. (2022). Review and perspectives of the use of alginate as a polymer matrix for microorganisms applied in agro-industry. *Molecules*, 27(13), 4248. DOI: [10.3390/molecules27134248](https://doi.org/10.3390/molecules27134248)
- McFarland, J. (1907). The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines. *Journal of the American Medical Association*, 49(14), 1176-1178. doi:10.1001/jama.1907.25320140022001f
- Miljković, D., Marinković, J., & Balešević-Tubić, S. (2020). The significance of *Bacillus* spp. in disease suppression and growth promotion of field and vegetable crops. *Microorganisms*, 8(7), 1037. DOI: [10.3390/microorganisms8071037](https://doi.org/10.3390/microorganisms8071037)
- Moradi Pour, M., Saberi Riseh, R., & Skorik, Y. A. (2022). Sodium alginate–gelatin nanoformulations for encapsulation of *Bacillus velezensis* and their use for biological control of pistachio gummosis. *Materials*, 15(6), 2114. DOI: [10.3390/ma15062114](https://doi.org/10.3390/ma15062114)
- Pacheco-Aguirre, J., Ruiz-Sanchez, E., Reyes-Ramírez, A., Cristóbal-Alejo, J., Tun-Suárez, J., & Borges-Gómez, L. (2016). Polymer-based encapsulation of *Bacillus subtilis* and its effect on *Meloidogyne incognita* in tomato. <https://doi.org/10.32604/phyton.2016.85.001>
- Poletto, F. S., Jäger, E., Cruz, L., Pohlmann, A. R., & Guterres, S. S. (2008). The effect of polymeric wall on the permeability of drug-loaded nanocapsules. *Materials Science and Engineering: C*, 28(4), 472-478. DOI: [10.1016/j.msec.2007.04.015](https://doi.org/10.1016/j.msec.2007.04.015)
- Rodrigues, S., Da Costa, A. M. R., & Grenha, A. (2012). Chitosan/carrageenan nanoparticles: Effect of cross-linking with tripolyphosphate and charge ratios. *Carbohydrate polymers*, 89(1), 282-289. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.03.010>
- Rodrigues, F. J., Cedran, M. F., Bicas, J. L., & Sato, H. H. (2020). Encapsulated probiotic cells: Relevant techniques, natural sources as encapsulating materials and food applications—A narrative review. *Food Research International*, 137, 109682. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109682>
- Salunke, P., & Koche, D. (2023). Role of phenolic compounds in plant defense mechanism: an updated review. *Indian Journal of Applied Pure Bio*, 38(3), 1199-1215. ISSN: 0970-2091
- Sharma, K., Sharma, S., & Prasad, S. R. (2019). PGPR: renewable tool for sustainable agriculture. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(1), 525-530. DOI: [10.20546/ijcmas.2019.801.058](https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.801.058)
- Shiade, S. R. G., Zand-Silakhoor, A., Fathi, A., Rahimi, R., Minkina, T., Rajput, V. D., ... & Chaudhary, T. (2024). Plant metabolites and signaling pathways in response to biotic and abiotic stresses: Exploring bio stimulant applications. *Plant Stress*, 12, 100454. DOI: [10.1016/j.stress.2024.100454](https://doi.org/10.1016/j.stress.2024.100454)
- Singh, V. K., Singh, A. K., & Kumar, A. (2017). Disease management of tomato through PGPB: current trends and future perspective. *3 Biotech*, 7(4), 255. DOI: [10.1007/s13205-017-0896-1](https://doi.org/10.1007/s13205-017-0896-1)
- Tu, L., He, Y., Yang, H., Wu, Z., & Yi, L. (2015). Preparation and characterization of alginate–

- gelatin microencapsulated *Bacillus subtilis* SL-13 by emulsification/internal gelation. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 26(12), 735-749. DOI: [10.1080/09205063.2015.1056075](https://doi.org/10.1080/09205063.2015.1056075)
- Vemmer, M., & Patel, A. V. (2013). Review of encapsulation methods suitable for microbial biological control agents. *Biological Control*, 67(3), 380-389. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.09.003>
- Vessey, J. K. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil*, 255(2), 571-586. <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>
- Wiwattanapatapee, R., Chumthong, A., Pengnoo, A., & Kanjanamaneesathian, M. (2013). Preparation and evaluation of *Bacillus megaterium*-alginate microcapsules for control of rice sheath blight disease. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(8), 1487-1497. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1314-4>
- Wu, Z., Zhao, Y., Kaleem, I., & Li, C. (2011). Preparation of calcium-alginate microcapsuled microbial fertilizer coating *Klebsiella oxytoca* Rs-5 and its performance under salinity stress. *European Journal of Soil Biology*, 47(2), 152-159. DOI: [10.1016/j.ejsobi.2010.11.008](https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2010.11.008)
- Wu, Z., Guo, L., Qin, S., & Li, C. (2012). Encapsulation of *R. planticola* Rs-2 from alginate-starch-bentonite and its controlled release and swelling behavior under simulated soil conditions. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 39(2), 317-327. DOI: [10.1007/s10295-011-1028-2](https://doi.org/10.1007/s10295-011-1028-2)
- Wu, Z., He, Y., Chen, L., Han, Y., & Li, C. (2014). Characterization of *Raoultella planticola* Rs-2 microcapsule prepared with a blend of alginate and starch and its release behavior. *Carbohydrate Polymers*, 110, 259-267. DOI: [10.1016/j.carbpol.2014.04.011](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.04.011)
- Xu, L., & Wang, X. (2025). A Comprehensive Review of Phenolic Compounds in Horticultural Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(12), 5767. DOI: [10.3390/ijms26125767](https://doi.org/10.3390/ijms26125767)
- Yang, G., & Li, C. (2012). General description of *Rhizoctonia* species complex (p. 14). INTECH Open Access Publisher. DOI: 10.5772/39026
- Young, C. C., Rekha, P. D., Lai, W. A., & Arun, A. B. (2006). Encapsulation of plant growth-promoting bacteria in alginate beads enriched with humic acid. *Biotechnology and Bioengineering*, 95(1), 76-83. DOI: [10.1002/bit.20957](https://doi.org/10.1002/bit.20957)
- Zhang, J., Chen, J., Hu, L., Jia, R., Ma, Q., Tang, J., & Wang, Y. (2021). Antagonistic action of *Streptomyces pratensis* S10 on *Fusarium graminearum* and its complete genome sequence. *Environmental Microbiology*, 23(4), 1925-1940. DOI: [10.1111/1462-2920.15282](https://doi.org/10.1111/1462-2920.15282)
- Zheng, L., Ma, X., Lang, D., Zhang, X., Zhou, L., Wang, L., & Zhang, X. (2022). Encapsulation of *Bacillus pumilus* G5 from polyvinyl alcohol sodium alginate (PVA-SA) and its implications in improving plant growth and soil fertility under drought and salt soil conditions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 209, 231-243. DOI: [10.1016/j.ijbiomac.2022.04.017](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.04.017)
- Zhong, X., Jin, Y., Ren, H., Hong, T., Zheng, J., Fan, W., ... & Huang, G. (2024). Research progress of *Bacillus velezensis* in plant disease resistance and growth promotion. *Frontiers in Industrial Microbiology*, 2, 1442980. <https://doi.org/10.3389/finmi.2024.1442980>
- Zhu, J., Wang, J., Ding, Y., Liu, B., & Xiao, W. (2018). A systems-level approach for investigating organophosphorus pesticide toxicity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 149, 26-35. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2017.10.066](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.10.066)