

مقاله تحقیقی

بررسی اثر قارچ‌های اندوفیت جدا شده از گندم در مهار زیستی بیماری پوسیدگی فوزاریومی طوقه و ریشه و ارزیابی برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی آن‌ها

زهرا حسین‌نژاد فوجردی^۱، کامران رهنما^۲، جیمز وایت^۳، علیرضا موحدی نائینی^۴، ساره حاتم‌زاده^۵

۱- دانشجوی دکتری بیماری شناسی گیاهی، استاد، گروه گیاه پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران.

۳- استاد، بخش بیماری شناسی و زیست شناسی گیاهی دانشگاه رانگز، نیوجرسی، نیو برانزویک آمریکا.

۴- دانشیار، گروه خاک شناسی، دانشکده آب و خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان، ایران.

۵- پژوهشگر، تحقیق و توسعه شرکت دانش بنیان ساراژن پردیس گرگان، گلستان، ایران.

مسئول مکاتبات: کامران رهنما، ایمیل: rahnama@gau.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۱۷

۳۱-۱۲(۲)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۷/۰۴

چکیده

گندم (*Triticum aestivum* L.) یکی از محصولات راهبردی و قوت اصلی مردم در جهان می‌باشد. پوسیدگی فوزاریومی طوقه و ریشه *Fusarium Crown Root (FCR)*، شایع‌ترین بیماری گندم و دارای اهمیت جهانی است که منجر به کاهش محصول می‌گردد. استفاده از همزیستی میکروبی مفید گیاهان با هدف بهبود بهره‌وری، یکی از مهم‌ترین شیوه‌های کشاورزی پایدار است. مهمترین و موثرترین روش‌های مبارزه جایگزین برای حفاظت از بوم نظام‌های زراعی و کاهش خطرات ناشی از آن، مهار زیستی با عوامل مختلف از جمله قارچ‌های اندوفیت می‌باشد. در این پژوهش، جدایه‌های قارچ اندوفیت از برگ، ساقه، غلاف، و نیز قارچ عامل بیماری از طوقه و ریشه بوته‌های گندم از مزارع استان گلستان روی محیط کشت‌های آگار غذایی به همراه آنتی‌بیوتیک، جداسازی و خالص سازی شدند. سپس از بین ۴۰ جدایه قارچ اندوفیت به دست آمده، شناسایی مرفولوژیکی و مولکولی با جفت آغازگر ITS4 و ITS5 برای نه جدایه قارچ اندوفیت و نیز یک جدایه قارچ بیمارگر، صورت پذیرفت. ویژگی‌های جدایه‌های اندوفیت به عنوان محرک‌های زیستی گیاه از طریق آزمایش‌های متعددی مانند: تاثیر آنتاگونیستی نه جدایه قارچ اندوفیت علیه جدایه بیمارگر *Fusarium pseudograminearum* عامل بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه، انحلال روی، فسفر، تولید سیدروفور و اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی گیاه گندم تحت تیمارهای مختلف در گلخانه ارزیابی شد. نتایج این پژوهش نشان داد، در آزمون کشت متقابل، بیشترین میزان درصد بازدارندگی از رشد قارچ عامل پوسیدگی طوقه و ریشه با ۶۹/۴۹، ۶۶/۰۶، ۶۳/۶۸ به ترتیب مربوط به جدایه‌های *Alternaria sp.*، *Penicillium pancosmium*، *Alternaria alternata* بودند. در روش متابولیت‌های فرار، جدایه قارچی *A. alternata* با ۵۰/۷۸ درصد بیشترین میزان فعالیت بازدارندگی را نشان دادند. در آزمون ترکیبات غیرفرار جدایه *A. alternata* به ترتیب با ۲۰/۵۹، ۲۸/۵۲، ۴۳/۸۳ درصد در نسبت‌های عصاره ۱۰-۲۰-۳۰ درصد دارای بیشترین درصد بازدارندگی از رشد قارچ عامل بیماری بود. در آزمون انحلال فسفات و روی بیشترین میزان به ترتیب مربوط به جدایه‌های *T. fici*، *Fusarium acuminatum*، *P. pancosmium*، *A. alternata*، *Turola fici* و در سنجش تولید سیدروفور فقط جدایه *T. fici* دارای توانایی تولید سیدروفور بود. در این بررسی بیشترین درصد کنترل بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه گندم در شرایط گلخانه با ۲۳/۶۸ درصد مربوط به جدایه *P. pancosmium* بود. در اثر متقابل جدایه‌ها، در سطح احتمال یک درصد، تیمار *A. alternata* بدون عامل بیمارگر به ترتیب با ۱۳۰/۱۱، ۵۸/۱۷، ۴۹/۰۷ درصد موجب بیشترین افزایش شاخص‌های رشدی به ترتیب ارتفاع، وزن

تر و خشک اندام هوایی و بیشترین میزان افزایش وزن تر و خشک ریشه به ترتیب با ۱۱۹/۷۶ و ۱۰۰ درصد نسبت به شاهد آلوده متعلق به تیمار *F. acuminatum* بدون عامل بیمارگر بود. این جدایه‌های بومی برای اولین بار از منطقه گلستان، گزارش می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: اندوفیت گندم، کنترل بیولوژیک، پوسیدگی طوقه و ریشه، شاخص رشدی، متابولیت فرار، فسفر

مقدمه

در حدود ۶۰ درصد سطح مزارع دنیا به کشت غلات اختصاص دارد که از این مقدار ۳۴ درصد به گندم و چاودار، ۱۱-۹ درصد به جو و یولاف و بقیه به برنج و ذرت اختصاص دارد. گندم (*Triticum aestivum* L.) یکی از محصولات استراتژیک غلات در جهان است که تحت تأثیر تنش عوامل زنده و هم غیرزنده قرار دارد. بیماری‌های گیاهی باعث تلفات تقریباً ۱۶ درصدی در سطح جهان می‌شوند (Fontana et al., 2021). پوسیدگی طوقه و ریشه فوزاریوم گندم یک بیماری خاک‌زی است که در بیشتر مناطق کشت گندم در سراسر جهان و ایران وجود دارد. چندین عامل بیماری‌زا با این مجموعه در ارتباط هستند، اما بیماری پوسیدگی فوزاریومی طوقه و ریشه (FCR) در جهان از شیوع بیشتری برخوردار است. گونه‌های مختلف فوزاریوم از جمله *F. culmorum*، *F. graminearum*، *F. pseudograminearum* از مهم‌ترین گونه‌های خسارت‌زای فوزاریوم در مزارع گندم در جهان هستند. در ایران نیز طبق گزارش (Dehghanpour farashah & salehzade 2021) گونه *F. culmorum* و *F. pseudograminearum* دارای بیشترین قدرت بیماری‌زایی می‌باشند (Dehghanpour farashah & salehzade., 2021). گونه‌های مختلف فوزاریوم، تولید محصولات را از طریق پوسیدگی بذر، گیاهچه، ریشه، طوقه و قاعده ساقه محدود می‌کنند که آلودگی گیاهچه و قاعده ساقه منجر به کاهش محصول و پر شدن ناقص دانه‌ها می‌شود (Maghsodloo et al., 2007; Smiley., 2010). تلفات ناشی از این بیماری در مناطق کشت گندم دیم از جمله شمال غربی اقیانوس آرام ایالات متحده، استرالیا و خاورمیانه گزارش شده است. با پیش‌بینی تغییرات اقلیمی جهانی برای افزایش فراوانی و شدت خشکسالی‌ها و تغییر الگوهای بارندگی در بسیاری از مناطق تولید گندم، انتظار می‌رود شیوع FCR در مناطقی که در

حال حاضر گزارش شده است افزایش و به سایر مناطق تولید گندم گسترش یابد. آب و هوای گرم و خشک‌تر باعث توسعه پوسیدگی ریشه و طوقه و افزایش تلفات عملکرد می‌شود (Moya et al., 2013). با توجه به افزایش رو به رشد جمعیت جهان استفاده از فناوری‌های جدید در کشاورزی به منظور افزایش تولید محصولات کشاورزی، یک امر ضروری است. استفاده از همزیستی میکروبی مفید گیاهان با هدف بهبود بهره‌وری کشاورزی یکی از مهم‌ترین شیوه‌های پایدار است (Ripa et al., 2019). عوامل درون رست با ایجاد تغییرات ژنتیکی، فیزیولوژیکی و اکولوژیکی در گیاهان میزبان خود، عملکرد آن‌ها را در واحد سطح افزایش می‌دهند و امکان توسعه کشت آن‌ها در خاک‌های شور، خشک یا اقلیم‌هایی با تنش‌های غیر زیستی و زیستی فراهم می‌آورند (White et al., 2019). مطالعات اندوفیت‌های گندم نشان داد که همه ارقام گندم دارای طیف نسبتاً وسیعی از اندوفیت‌ها، عمدتاً قارچ‌ها هستند (Ofek-Lazar et al., 2016).

همچنین در ایران نیز برخی قارچ‌های اندوفیت گندم شامل *P. Alternaria.tenuissima*، *Fusarium. acuminatum* و *pancosmium* از مزارع استان گلستان برای اولین بار شناسایی و گزارش شدند (Hosseinnejad et al., 2024). قارچ‌های اندوفیت عملکردهای متفاوتی در مقایسه با باکتری‌های افزایش دهنده رشد گیاه گندم دارند، زیرا باعث انتقال مواد مغذی از محیط ریشه به گیاه، افزایش تحمل در برابر تنش‌ها، تعدیل در توسعه گیاه، مقاومت در مقابل تنش‌های زنده و غیر زنده و سبب افزایش رشد و نمو می‌شوند (White et al., 2019).

قارچ‌های اندوفیت یکی از بهترین منابع ترکیبات فعال زیستی طبیعی هستند که کاربردهای بالقوه‌ای در زمینه‌های مختلف مانند کشاورزی، داروسازی و صنایع غذایی دارند. غربالگری این قارچ‌ها برای ترکیبات جدید منجر به کشف

هزاران متابولیت با انواع مختلف فعالیت‌های بیولوژیکی شد. قارچ‌های اندوفیت می‌توانند ساختار و عملکرد ترکیبات میزبان را شبیه سازی کنند (Rashimi et al., 2019). قارچ‌های اندوفیت با تولید متابولیت‌های ثانویه، از جمله هورمون‌های گیاهی (اکسین، سیتوکینین، جبرلین)، سیدروفور، متابولیت‌های حل‌کننده فسفات، روی، افزایش دسترسی به مواد مغذی خاک رشد گیاه را تحریک می‌کنند (Syamsia et al., 2021). نتایج بررسی اثر دو گونه انگل قارچ حشرات *Beauveria bassiana* و *Metarhizium brunneum* به عنوان اندوفیت در برابر *Fusarium culmorum* نشان داد، هر دو قارچ قادر به کلنیزه کردن ریشه و ساقه گندم هستند و باعث بهبود پارامترهای رشدی گیاه شامل: ارتفاع ساقه، طول ریشه و وزن ریشه و ساقه تازه و کاهش قابل توجه بروز، توسعه و شدت بیماری پوسیدگی طوقه می‌شوند (Jaber., 2018). قارچ‌های اندوفیت می‌توانند هورمون‌های گیاهی، به ویژه جبرلین‌ها (GAs) را تولید کنند که رشد محصول را افزایش داده و اثرات مضر تنش‌های غیرطبیعی را کاهش می‌دهد. جبرلین‌ها اسیدهای تتراسایکلیک دیترپنوئیک هستند که توانایی تنظیم فرآیندهای مختلف رشد و فیزیولوژیکی در گیاهان از جمله جوانه زنی بذر، رشد نهال، رشد ساقه و برگ، شروع گل و رشد گل و میوه را دارند (Pharis & King, 1985). در این راستا نظر به اهمیت افزایش رشد گندم و مقاومت در برابر بیماری‌های خاکزاد این تحقیق با فرضیه وجود عوامل اندوفیت در برخی ارقام گندم، انجام شد. تا ضمن اثبات این فرضیه، با بررسی‌های بیشتر جهت ردیابی عوامل اندوفیت قارچی، شاخص‌های آنتاگونیستی و رویشی گیاه ارزیابی و از نظر آماری تحلیل شوند تا به یک رویکرد جدید جهت کنترل بیماری پی برد.

مواد و روش‌ها

جمع آوری نمونه، جداسازی و شناسایی جدایه‌های قارچی اندوفیت و جدایه بیمارگر

در این پژوهش به منظور جداسازی قارچ‌های اندوفیت و عامل بیمارگر، طی دو سال متوالی (۱۴۰۱ و ۱۴۰۲)

نمونه‌برداری از مزارع مختلف گندم پاییزه در استان گلستان، انجام شد. از گیاهان دارای علائم پوسیدگی طوقه و ریشه جهت جداسازی عامل بیمارگر و برای عامل قارچ اندوفیت، گیاهان سالم و فاقد هر گونه علائم آفت و بیماری، به صورت تصادفی جمع آوری، و با ثبت مشخصات و قرار دادن در پاکت کاغذی به آزمایشگاه منتقل شدند. جهت جداسازی قارچ اندوفیت، ابتدا نمونه‌ها با آب شستشو و به قطعات سه سانتی‌متری تقسیم شدند. برای ضدعفونی سطحی به ترتیب از اتانول ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه، هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت دو دقیقه، اتانول ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه و سه بار شستشو با آب مقطر سترون استفاده گردید. پس از خشک شدن نمونه‌ها روی کاغذ صافی استریل، بر روی محیط غذایی سیب زمینی دکستروز آگار (PDA) همراه با آنتی بیوتیک تتراسایکلین با مقدار ۱۰۰ میلی گرم بر لیتر، قرار داده شدند و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوباتور قرار گرفتند. جهت شناسایی قارچ عامل بیماری، از ریشه و بن طوقه گندم‌های آلوده جداسازی انجام و قطعاتی از حفاصل بین قسمت آلوده و سالم پس از ضدعفونی با اتانول ۷۰ درصد روی محیط غذایی سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA) کشت شد. سپس خالص‌سازی قارچ‌های رشدیافته با استفاده از روش نوک ریشه در محیط کشت آب-آگار دو درصد صورت گرفت. از بین ۴۰ جدایه به دست آمده، نه جدایه قارچ اندوفیت بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی این گونه‌ها همراه نوع تشکیل کنیدی و کنیدیوفور و با استفاده از کلیدهای معتبر مورد شناسایی قرار گرفت. سپس به منظور شناسایی مولکولی، استخراج DNA به روش CTAB انجام و ناحیه ژنومی ITS-rDNA با جفت آغازگر ITS4 و ITS5 تکثیر گردید. در نهایت توالی‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار بلاست در پایگاه NCBI با توالی‌های موجود در بانک ژن مقایسه و شناسایی گردید (De Hoog et al., 2000; Nelson et al., 1983; Barnett & Hunter, 1998).

آزمون کشت متقابل

این آزمون بر اساس روش (Dennis & Webster 1971) و با در نظر گرفتن سه تکرار برای هر تیمار انجام شد. Dennis & Webster (1971). ابتدا محیط کشت PDA در پتری هشت سانتیمتری سترون ریخته شد. بعد از جامد شدن محیط کشت، ابتدا یک دیسک میسلومی با قطر پنج میلی‌متر از قارچ اندوفیت در فاصله نیم سانتیمتری از لبه پتری قرار داده شد و به طور همزمان یا بعد از دو روز بسته به سرعت رشد قارچ آنتاگونیست، در مقابل آن دیسک میسلومی از کشت ۷-۵ روزه قارچ بیمارگر *F. pseudograminearum* با فاصله نیم سانتیمتری از لبه تشک پتری قرار گرفت. در پتری شاهد در یک سمت تنها دیسک پنج میلیمتری از قارچ بیمارگر و در مقابل قرصی از محیط کشت PDA قرار گرفت. تشک‌ها با پارافیلیم پوشانده شدند و در دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس نگهداری و اندازه‌گیری رشد میسلومی قارچ بعد از هفت روز مورد ارزیابی قرار گرفت. در پایان دوره رشدی، رشد شعاعی بیمارگر در تیمارهای مختلف اندازه‌گیری شد. در نهایت درصد کاهش رشد میسلوم قارچ با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Etebarian et al., 2005).

$$n = (a - b) / a \times 100 \quad \text{معادله شماره ۱:}$$

n: درصد بازدارندگی از رشد عامل بیماری

a: شعاع پرگنه عامل بیماری در تشک پتری شاهد

b: شعاع پرگنه عامل بیماری در تشک پتری تیمار

آزمون تولید متابولیت‌های فرار

جهت ارزیابی تولید ترکیبات فرار، یک دیسک میسلومی از کشت جوان پنج روزه جدایه‌های اندوفیت در مرکز تشک پتری دو خانه‌ای حاوی محیط کشت PDA قرار داده شد. سپس در مرکز تشک خانه دیگر قرصی از کشت جوان جدایه قارچ بیمارگر قرار داده شد. تشک‌ها با پارافیلیم پوشانده شدند و در دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس نگهداری شدند. در این آزمون برای هر تیمار سه تکرار انجام شد. در نمونه شاهد نیز مقابل دیسک میسلومی بیمارگر، قرصی از

محیط کشت قرار داده شد. بعد از هفت روز نگهداری در اتاقک رشد (انکوباتور)، میزان رشد قطری قارچ‌ها در تشک‌های پتری اندازه‌گیری و ثبت شد (Lillbro., 2005). درصد بازدارندگی از رشد قارچ عامل بیماری توسط جدایه‌های قارچی اندوفیت مورد مطالعه به کمک معادله شماره یک محاسبه گردید.

آزمون تولید ترکیبات غیر فرار

برای انجام این آزمون ابتدا جدایه قارچ‌های اندوفیت به صورت چهار دیسک پنج میلی‌متری، در داخل ارلن های ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت PDB فاقد آنتی بیوتیک کشت داده شد و به مدت ۱۰ روز روی دستگاه تکان دهنده با سرعت ۷۰ دور در دقیقه در دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس قرار داده شد. سپس با عبور از کاغذ صافی و فیلتر سرسرنگی میکروبیولوژی با قطر ۰/۴۵ میکرومتر، عصاره‌گیری انجام شد (Araghi & Rahnama., 2008). عصاره فیلتر شده با نسبت‌های ۳۰، ۲۰، ۱۰ درصد اضافه گردید و پس از آن یک دیسک میسلومی از کشت سه روزه عامل بیماری در مرکز تشک‌های پتری تیمار و شاهد در سه تکرار قرار گرفت. پس از ۱۰ روز رشد قطری عامل بیماری در شاهد و تیمار اندازه‌گیری شد.

آزمون محلول شدن فسفات

ارزیابی انحلال فسفات به صورت کیفی و با استفاده از روش پلیت انجام شد. بدین جهت محیط کشت Pikovskaya تهیه و قطعات میسلومی پنج میلی‌متری از کشت‌های تازه جدایه‌های قارچی در سه تکرار در این محیط، تلقیح و به مدت پنج روز در دمای 26 ± 2 درجه سلسیوس درون اتاقک رشد قرار گرفت. تشکیل یک منطقه روشن در اطراف پرگنه نشانگر قابلیت حل شدن فسفات توسط قارچ است (Räut et al., 2021).

سنجش تولید سیدروفور

فعالیت سیدروفور در محیط CAS (Chrome Azurol S) آگار مورد سنجش قرار گرفت. پس از تلقیح قطعات میسلومی پنج میلی‌متری از جدایه‌های اندوفیت در این

انجام و سپس بذرهای گندم جوانه زده در شرایط سترون هود در محلول اسپور با غلظت $10^5 \times 5$ قارچ اندوفیت همراه با توئین ۲۰ با غلظت ۰/۵ درصد قرار گرفتند (Waller et al., 2005). بذرهای تیمار شده به مدت ۱۰ ساعت بر روی دستگاه شیکر با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه قرار داده شدند تا امکان اتصال اسپورهای قارچ‌های اندوفیت به سطح ریشه‌چه فراهم شود. سپس سه بذر درون هر گلدان و در مجموع ۴۰ عدد گلدان دارای خاک استریل کشت و برای هر تیمار چهار تکرار در نظر گرفته شد. به منظور تلقیح قارچ بیمارگر به بستر کاشت، از مایه تلقیح دانه گندم استفاده و بدین منظور بعد از خیساندن گندم به مدت ۲۰ ساعت، مقدار ۱۶۰ گرم آن در ارلن‌های یک لیتری ریخته و در دو روز متوالی به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس تحت فشار ۱۵psi (تقریباً ۱۰۳ کیلوپاسکال) انجام گرفت. استریل شد، سپس دمای ارلن‌ها توسط دستگاه بن ماری آب گرم متعادل شده و با استفاده از ریشه‌های رشد کرده جوان کشت سه روزه قارچ بیمارگر *F. pseudograminearum* تلقیح و ارلن‌ها در دما 24 ± 1 درجه سلسیوس به مدت چهار هفته در انکوباتور جهت رشد کامل قارچ نگهداری شدند (Akrami & Yousefi, 2015). مایه تلقیح تهیه شده به میزان ۱۰ گرم در هر یک کیلوگرم بستر کاشت (نسبت وزنی ۱ به ۱۰) در زمان سه چهار برگی بوته گندم اضافه گردید. تیمارهای آزمایش شامل بوته‌های مایه‌زنی شده با بیمارگر همراه با جدایه اندوفیت، بوته‌های مایه‌زنی شده با بیمارگر به تنهایی شاهد آلوده و بوته‌های بدون مایه‌زنی (شاهد سالم). بر اساس روش Kane et al. (1987) برای تعیین قدرت بیماری‌زایی برحسب میزان گسترش علائم بیماری به هر بوته نمره‌هایی از ۱ تا ۵، ۱: بدون علامت، ۲: تغییر رنگ در ریشه‌های اولیه و گره اسکوتلومی، ۳: تغییر رنگ گسترده و سرایت آن به میانگره زیر طوقه، ۴: پوسیدگی در ناحیه گره اسکوتلومی، میانگره زیر طوقه و سرایت آن به طوقه، ۵: ایجاد مرگ گیاه در اثر پوسیدگی گسترده در ناحیه طوقه و پایین ساقه، داده شد (Kane et al., 1987). سپس با استفاده از معادله ۲ شدت بیماری محاسبه گردید.

محیط، در سه تکرار کشت و به مدت هفت روز در دمای ۲۶ درجه سلسیوس درون اتاقک رشد نگهداری شدند. تشکیل هاله نارنجی در اطراف پرگنه، نشان‌دهنده توانایی جدایه در تولید سیدروفور بود (Bilal et al., 2018).

آزمون محلول شدن روی

توانایی حل شدن روی توسط جدایه‌های قارچی با استفاده از روش پلیت و یک ترکیب نامحلول روی، به عنوان ZnO مورد آزمایش قرار گرفت. بدین جهت محیط کشتی با ترکیب دکستروز، آمونیوم سولفات، پتاسیم کلرید، دی‌پتاسیم فسفات، منیزیم سولفات، اکسیدروی، آگار تهیه و در پلیت‌ها توزیع شدند. سپس قطعات میسلیومی پنج میلی‌متری از کشت‌های تازه جدایه‌های قارچی در این محیط، در سه تکرار، کشت و به مدت هفت روز در دمای 26 ± 2 درجه سلسیوس درون اتاقک رشد قرار گرفت. تشکیل یک هاله روشن در اطراف پرگنه نشانگر قابلیت حل شدن روی توسط قارچ است (Räut et al., 2021).

بررسی گلخانه‌ای

در این پژوهش از چهار جدایه قارچ اندوفیت ZH4-ZH5-ZH7-ZH12، که توانایی بیوکنترلی آن‌ها در شرایط آزمایشگاهی ثابت شده بود، جهت مطالعات گلخانه‌ای انتخاب شدند. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار و برای هر تیمار ۴ تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. بذر گندم رقم تیرگان به مدت یک شبانه روز در آب مقطر سترون خیسانده و پس از انجام مراحل ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم یک درصد و شستشو با آب مقطر استریل، به منظور جوانه زنی در اتاقک مرطوب با دمای ۲۰ درجه سلسیوس و رطوبت ۹۰ درصد قرار گرفت. خاک مورد نیاز با استفاده از اتوکلاو به مدت یک ساعت در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس طی دو روز متوالی سترون گردید.

برای مایه زنی جدایه‌های اندوفیت از تیمار بذر توسط سوسپانسیون اسپور استفاده شد. تهیه سوسپانسیون اسپورهای قارچ از سطح محیط کشت به روش (Waller et al., 2005).

$$DS = \sum X_i n_i / N X_{\max} \quad \text{معادله ۲}$$

در این معادله X_i = درجه سطح آلودگی، n_i = تعداد بوته‌های بیمار با هر درجه از سطح آلودگی، N = تعداد بوته‌های مورد بررسی می‌باشد.

در این آزمایش برخی شاخص‌های رشدی گیاه از جمله طول ساقه، وزن تر اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی، وزن تر ریشه و وزن خشک ریشه نیز بررسی شد. ارتفاع بوته‌ها با استفاده از خط کش و وزن تر بوته‌ها پس از خارج کردن آن‌ها از گلدان و شستشو با آب، با استفاده از ترازوی دیجیتال آزمایشگاهی اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار برای شرایط آزمایشگاهی و چهار تکرار برای شرایط گلخانه‌ای انجام شد. داده‌های به دست آمده توسط نرم افزار SAS

مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه میانگین داده‌ها به روش حداقل اختلاف معنی دار (LSD) صورت گرفت.

نتایج

قارچ‌های اندوفیت جداسازی شده از بافت گیاه گندم از نظر ریخت شناسی و مولکولی بر اساس ناحیه رو نویسی شده ژنومی ITS-rDNA به عنوان جدایه‌های، *Fusarium sp*، *Penicillium citrinum*، *Torula fici*، *Penicillium*، *Alternaria*، *Fusarium acuminatum*، *pancosmium*، *Alternaria*، *Cladosporium ramotenellum*، *alternata*، *Sporisorium graminicola* شناسایی و مورد مطالعه قرار گرفتند. همچنین قارچ *F. pseudograminearum* از گیاهان گندم دارای علائم به عنوان عامل بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه گندم جداسازی و از نظر مرفولوژیکی و مولکولی شناسایی شد (جدول ۱).

جدول ۱- مشخصات قارچ‌های اندوفیت و قارچ عامل بیمارگر جداسازی شده از گندم

Table1. Characteristics of endophytic and pathogenic fungi isolated from wheat

isolate code	Species	GenBank Accession number
Fps5	Pathogen: <i>Fusarium pseudograminearum</i>	PX128503
ZH1	<i>Fusarium sp.</i>	PX128504
ZH3	<i>Penicillium citrinum</i>	PX128505
ZH4	<i>Torula fici</i>	PX128506
ZH5	<i>Penicillium pancosmium</i>	PX128507
ZH7	<i>Fusarium acuminatum</i>	PX128508
ZH11	<i>Alternaria sp.</i>	PX128509
ZH12	<i>Alternaria alternata</i>	PX128510
ZH13	<i>Cladosporium ramotenellum</i>	PX128511
ZH15	<i>Sporisorium graminicola</i>	PX128512

A. alternata، *P. pancosmium*، *Alternaria sp.* و کمترین درصد میزان بازدارندگی با ۴۴/۶۸ درصد به جدایه *C. ramotenellum* تعلق داشت (شکل ۱).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین بین تیمارهای مورد مطالعه در سه آزمون بیوکنترلی، از نظر اندازه رشد ریشه‌ها و درصد بازدارندگی از رشد بیمارگر *F. pseudograminearum* در جدول ۲ ارائه شده است.

بازدارندگی از رشد عامل بیماری‌زا در آزمون کشت متقابل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات اندازه رشد ریشه‌ها و درصد بازدارندگی از رشد ریشه قارچ بیمارگر، نشان داد که اثر تیمار در این آزمون در سطح احتمال یک درصد برای هر دو صفت معنی‌دار بود (جدول ۲). بیشترین میزان درصد بازدارندگی از رشد قارچ عامل پوسیدگی طوقه و ریشه با ۶۹/۴۹، ۶۶/۰۶، ۶۳/۶۸ به ترتیب مربوط به جدایه‌های

جدول ۲- اثر آنتاگونیستی قارچ‌های اندوفیت جدا شده از گندم در بازدارندگی از رشد میسلیومی *Fusarium pseudograminearum* در آزمایشگاه

Table 2. Antagonistic Effect of Endophytic Fungi Isolated from Wheat on the Mycelial Growth Inhibition of *Fusarium pseudograminearum* in Vitro

Treatments	Dual culture method		Volatile metabolites		Non-volatile metabolites 10%		Non-volatile metabolites 20%		Non-volatile metabolites 30%	
	Mycelial Growth	inhibition percentage	Mycelial Growth	inhibition percentage	Mycelial Growth	inhibition percentage	Mycelial Growth	inhibition percentage	Mycelial Growth	inhibition percentage
Control	3.04 a		2.45 a		3.33a		3.33 a		3.33a	
<i>Fusarium</i> sp.	1.20 d	60.24	1.49 de	23.42	2.67c	19.66	2.62 bc	21.30	2.56bc	28.64
<i>Penicillium citrinum</i>	1.12de	63.43	0.97 f	46.84	3.29a	1.33	3.28 a	1.53	3.20 a	5.15
<i>Torula fici</i>	1.50 c	49.57	1.70 b	12.63	2.87bc	13.50	2.81 b	16.55	2.51bc	24.58
<i>Penicillium pancosmium</i>	1.04ef	66.06	1.74 b	10.76	2.79 c	16.25	2.50 c	27.46	2.37 c	29.94
<i>Fusarium acuminatum</i>	1.45 c	52.56	1.62 bcd	17.10	2.83 c	14.93	2.41 c	27.66	2.25 c	32.59
<i>Alternaria</i> sp.	0.91 f	69.49	1.37 e	30.30	2.89bc	13.35	2.83 b	15.01	2.70 b	18.72
<i>Alternaria alternata</i>	1.12de	63.68	1.04 f	50.78	2.64 c	20.59	2.37 c	28.52	1.87 d	43.83
<i>Cladosporium ramotenellum</i>	1.68 b	44.68	1.54 cd	21.26	3.12ab	6.28	3.16 a	5.04	3.16 a	4.94
<i>Sporisorium graminicola</i>	1.41 c	52.79	1.66 bc	14.80	3.24 a	2.66	3.21 a	4.85	3.18 a	5.57
LSD:	0.145	2.931	0.142	3.602	0.28	2.532	0.30	3.391	0.31	3.049
P:	(1%)	(1%)	(5%)	(5%)	(1%)	(1%)	(1%)	(1%)	(1%)	(1%)



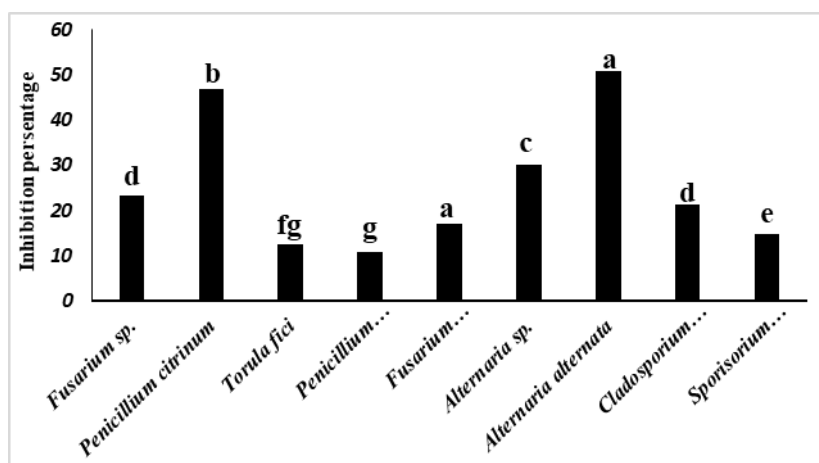
شکل ۱- اثر بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر *Fusarium pseudograminearum* توسط جدایه‌های قارچ اندوفیت به ترتیب از سمت چپ A: *Alternaria* sp. B: *Penicillium pancosmium* C: *Alternaria alternata* در آزمون کشت متقابل پس از ۷ روز روی محیط کشت PDA در دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس.

Fig. 1. Inhibition of *Fusarium pseudograminearum* mycelial growth by by endophytic fungi in dual culture method after culture 7 day on the PDA medium with $25 \pm 2^\circ\text{C}$. A: *Alternaria* sp. B: *Penicillium pancosmium* C: *Alternaria alternata*

در سطح احتمال پنج درصد برای هر دو صفت معنی دار بود. جدایه قارچی *A. alternata* با $50/78$ درصد بیشترین و *P. pancosmium* با $10/76$ درصد کمترین میزان فعالیت بازدارندگی را نشان دادند (جدول ۲، شکل ۳ و ۴).

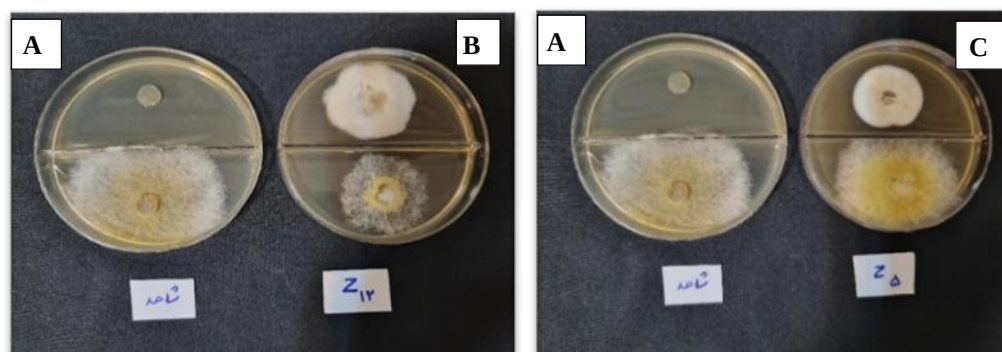
اثر متابولیت‌های فرار در بازدارندگی از رشد عامل بیماری‌زا

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اندازه رشد ریشه‌ها و درصد بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر، اثر تیمار در این آزمون



شکل ۲- درصد بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر *Fusarium pseudograminearum* توسط جدایه‌های قارچ اندوفیت در آزمون متابولیت‌های فرار

Fig. 2. Inhibition percentage of *Fusarium pseudograminearum* growth by endophytic fungi in volatile metabolites experiment. (LSD:3.602).



شکل ۳- بازدارندگی از رشد ریشه قارچ *Fusarium pseudograminearum* عامل پوسیدگی طوقه و ریشه گندم توسط

جدایه‌های قارچ اندوفیت به ترتیب از سمت چپ *Penicillium pancosmium* C: *Alternaria alternata* B: کنترل A: در آزمون ترکیبات فرار پس از ۷ روز روی محیط کشت PDA در دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس.

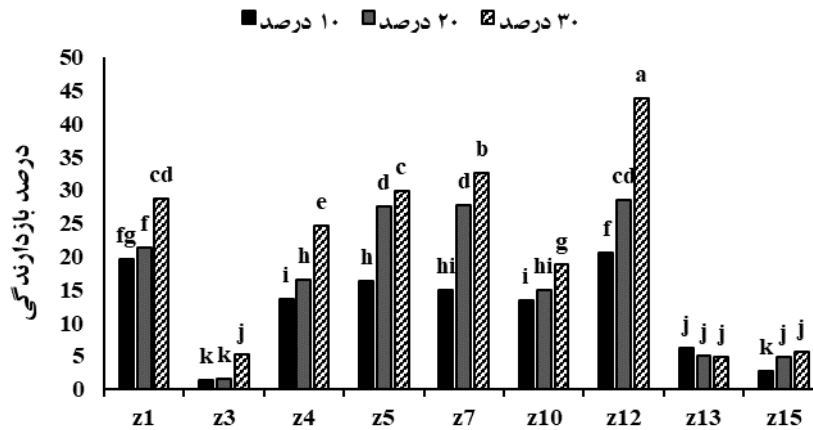
Fig. 3. Inhibition of *Fusarium pseudograminearum* mycelial growth by endophytic fungi in volatile metabolites test tests after culture 7–10 day on the PDA medium with 25 ± 2 °C.

A: control B: *Alternaria alternata* C: *Penicillium pancosmium*

به ترتیب با ۲۰/۵۹، ۲۸/۵۲، ۴۳/۸۳ درصد در نسبت های عصاره ۱۰-۲۰-۳۰ درصد دارای بیشترین درصد بازدارندگی از رشد قارچ عامل بیماری بود. همچنین کمترین درصد بازدارندگی از رشد در نسبت عصاره ۲۰-۱۰ درصد، متعلق به جدایه *Penicillium citrinum* و در نسبت ۳۰ مربوط به جدایه *Cladosporium ramotenellum* می‌باشد (جدول ۲، شکل ۴ و ۵).

اثر ترکیبات غیر فرار روی رشد پرگنه قارچ بیمارگر

نتایج بررسی اثر ترکیبات غیر فرار بر رشد بیمارگر نشان داد، اثر تیمار در این آزمون در سطح احتمال یک درصد (P: 1%) برای هر دو صفت رشد میسلومی و درصد بازدارندگی معنی‌دار بود. در بین ۹ جدایه اندوفیت، در سه نسبت عصاره (۱۰-۲۰-۳۰ درصد)، جدایه *A. alternata*

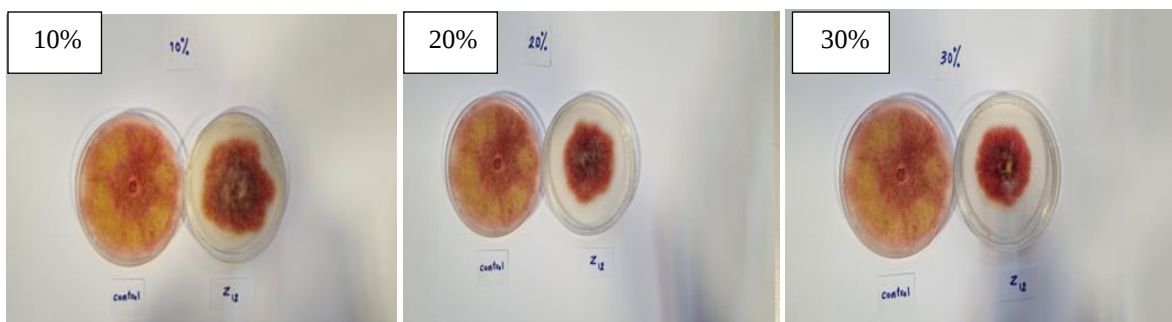


شکل ۴- درصد بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر *Fusarium pseudograminearum* توسط ترکیبات خارج سلولی جدایه‌های قارچ اندوفیت در آزمون ترکیبات غیر فرار با نسبت عصاره ۱۰-۲۰-۳۰ درصد.

Z1: *fusarium* sp. Z3: *Penicillium citrinum*. Z4: *Torula fici*. Z5: *Penicillium pancosmium*. Z7: *Fusarium acuminatum* Z10: *Alternaria* sp. Z12: *Alternaria alternata*. Z13: *Cladosporium ramotenellum*. Z15: *Sporisorium graminicola*

Fig. 4. Inhibition percentage of *Fusarium pseudograminearum* growth by extracellular fluid compounds of endophytic fungi in ratios of 10-20-30% (LSD:1.706).

Z1: *fusarium* sp. Z3: *Penicillium citrinum*. Z4: *Torula fici*. Z5: *Penicillium pancosmium*. Z7: *Fusarium acuminatum* Z10: *Alternaria* sp. Z12: *Alternaria alternata*. Z13: *Cladosporium ramotenellum*. Z15: *Sporisorium graminicola*



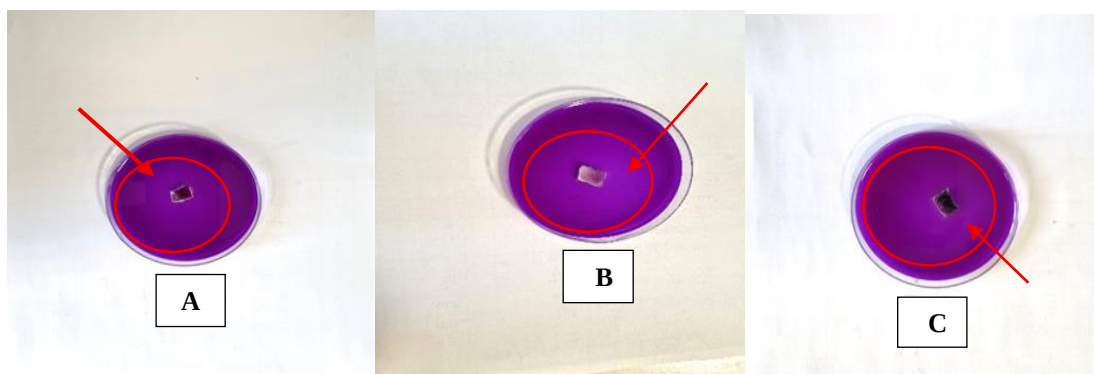
شکل ۵- بازدارندگی از رشد ریشه قارچ بیمارگر *Fusarium pseudograminearum* توسط ترکیبات خارج سلولی جدایه قارچ اندوفیت *Alternaria alternata* در نسبت‌های ۱۰-۲۰-۳۰ درصد بر روی محیط کشت PDA پس از ۱۰ روز در دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس.

Fig. 5. Inhibition of *Fusarium pseudograminearum* Mycelial Growth by Extracellular Compounds of *Alternaria alternata* at 10, 20, and 30% Concentrations after 7-10 Days of Culture on PDA Medium at $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

ارزیابی آزمون محلول شدن فسفات

بیشترین قطر هاله در آزمون محلول شدن فسفات به ترتیب متعلق به جدایه‌های *A. p. pancosmium*، *F. acuminatum* و *Alternaria* sp. و نیز جدایه‌های *T. fici*، *alternata* و *P. citrinum* فاقد توانایی انحلال فسفات بودند (شکل ۶ و ۹).

نتایج تجزیه واریانس در بین نه جدایه مورد بررسی، نشان داد اثر تیمار در این آزمون در سطح احتمال یک درصد (P: 1%) برای هر سه صفت فسفات، روی و تولید سیدروفور معنی‌دار بود.



شکل ۶- هاله شفاف اطراف ریشه قارچ‌های اندوفیت در آزمون محلول شدن فسفات بعد از پنج روز.

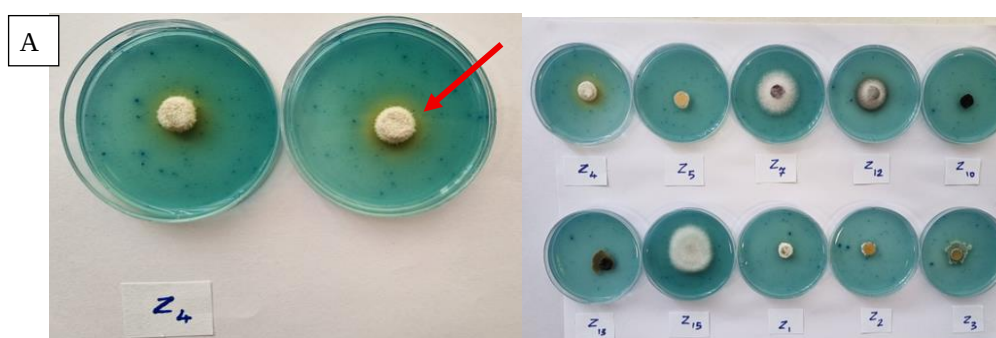
A: *Fusarium acuminatum* B: *Penicillium pancosmium* C: *Alternaria alternata*

Fig 6. Appearance of clear zone (halo) around mycelium of endophytic fungi in phosphorus solubilization after five days of incubation.

مورد بررسی، فقط جدایه *T. fici*، دارای هاله نارنجی و توانایی تولید سیدروفور بود (عکس ۷ و ۹)

ارزیابی آزمون تولید سیدروفور:

طبق پژوهش انجام شده، در بین نه جدایه قارچ اندوفیت



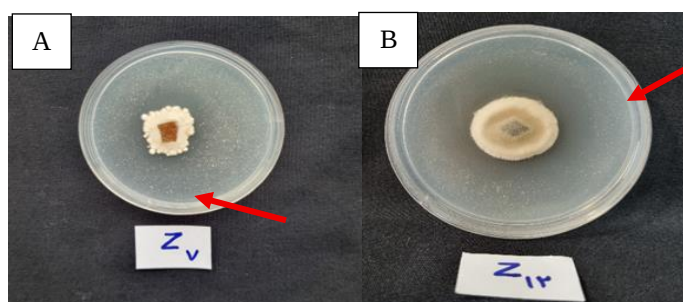
شکل ۷- آزمون تولید سیدروفور توسط قارچ‌های اندوفیت بعد از هفت روز A: *Turola fici*

Fig 7. Siderophore production by endophytic fungi on CAS agar plates after seven days of incubation.

بیشترین قطر هاله و جدایه‌های *P. citrinum*، *C. ramotenellum*، *S. graminicola* فاقد توانایی حل کردن روی و تشکیل هاله شفاف بودند (شکل ۸ و ۹).

ارزیابی آزمون محلول شدن روی:

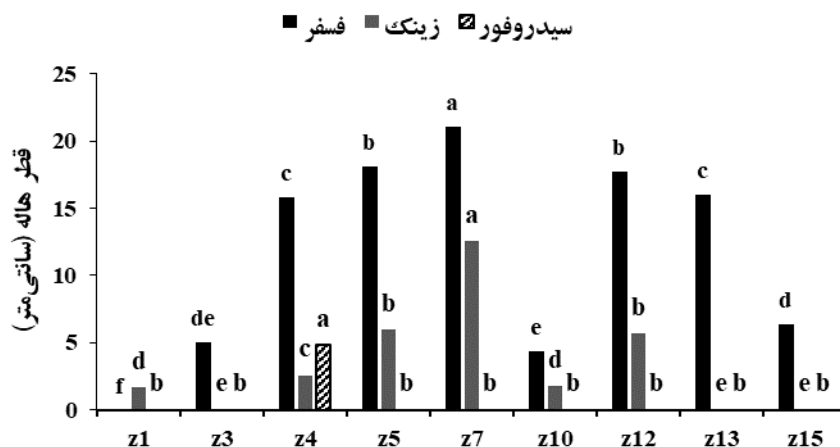
براساس نتایج به دست آمده، جدایه‌های *F. acuminatum*، *P. pancosmium* و *A. alternata* به ترتیب دارای



شکل ۸- تشکیل هاله شفاف اطراف ریشه قارچ‌های اندوفیت در آزمون محلول شدن روی بعد از هفت روز.

A: *Fusarium acuminatum* B: *Alternaria alternata*

Fig. 8. Appearance of clear zone (halo) around mycelium endophytic fungi in Zn solubilization after seven days of incubation.



شکل ۹- مقایسه میزان محلول شدن روی، فسفات و تولید سیدروفور توسط جدایه های قارچ اندوفیت

Z1: *fusarium* sp. Z3: *Penicillium citrinum*. Z4: *Torula fici*. Z5: *Penicillium pancosmium*. Z7: *Fusarium acuminatum* Z10: *Alternaria* sp. Z12: *Alternaria alternata* . Z13: *Cladosporium ramotenellum*. Z15: *Sporisorium graminicola*

Fig. 9. Comparison of zinc, phosphate solubilization and siderophore production by endophytic fungal isolates.

Z1: *fusarium* sp. Z3: *Penicillium citrinum*. Z4: *Torula fici*. Z5: *Penicillium pancosmium*. Z7: *Fusarium acuminatum* Z10: *Alternaria* sp. Z12: *Alternaria alternata* . Z13: *Cladosporium ramotenellum*. Z15: *Sporisorium graminicola*

نشان داد، اثر تیمار روی این صفات در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. بر اساس نتایج جدول مقایسه میانگین شدت بیماری، کمترین درصد شدت بیماری نسبت به شاهد با ۲۴/۱۶ درصد مربوط به جدایه *P. pancosmium* بود (شکل ۱۰ و ۱۱).

مهار بیماری در شرایط گلخانه‌ای

در این آزمون اثر مهار زیستی چهار جدایه قارچ اندوفیت منتخب که در شرایط آزمایشگاهی بیشترین اثر بازدارندگی از رشد قارچ بیمارگر را داشتند در شرایط گلخانه مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس مربوط به شدت بیماری و درصد مهار بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه گندم

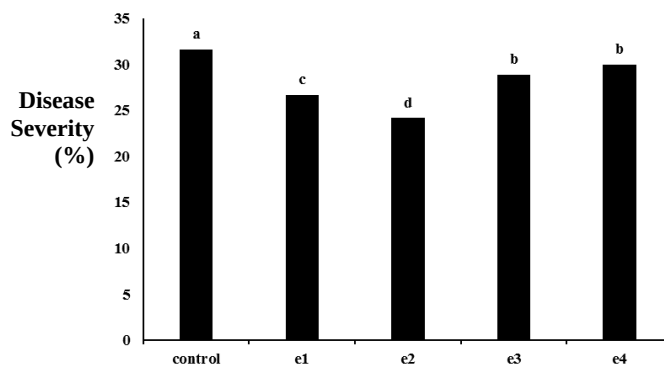


شکل ۱۰- مهار بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه گندم *Fusarium pseudograminearum* با قارچ اندوفیت *Penicillium*

A: شاهد آلوده B: تلقیح شده با *Penicillium pancosmium* در شرایط گلخانه.

Fig. 10. Inhibition of *Fusarium pseudograminearum* by endophytic fungi under greenhouse conditions:

A) Infected control, B) Inoculated with *Penicillium pancosmium*



شکل ۱۱- تاثیر قارچ‌های اندوفیت روی درصد شدت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه گندم در شرایط گلخانه e1: *Turola fici*

e2: *Penicillium pancosmium* e3: *Fusarium acuminatum* e4: *Alternaria alternata*

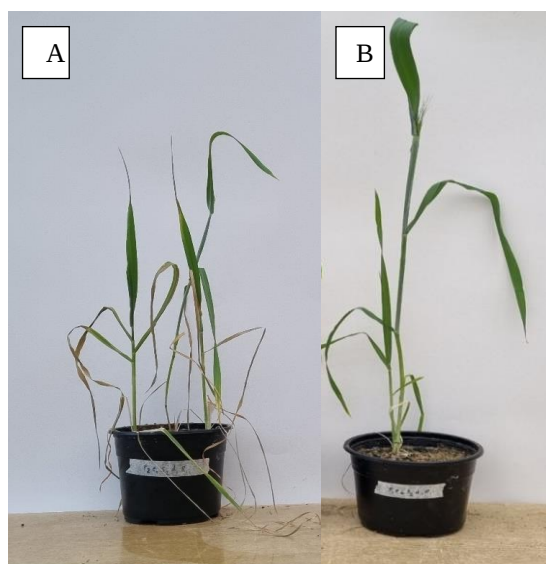
Fig.11. Effect of fungal endophytes on *Fusarium pseudograminearum* severity percentage under greenhouse conditions. (LSD: 1.611)

مشاهده شد (شکل ۱۳). کاربرد این جدایه در حضور عامل

بیمارگر *F. pseudograminearum* نیز به ترتیب باعث افزایش ۱۲۳ درصدی طول ساقه، ۷۹/۳۶ درصدی وزن تر اندام هوایی و ۳۸/۲۶ درصدی وزن خشک اندام هوایی شد. همچنین تیمار قارچ اندوفیت *F. acuminatum* بدون عامل بیمارگر دارای بیشترین میزان وزن تر، وزن خشک ریشه به ترتیب با ۵/۲۱ و ۳/۲۴ گرم و کمترین میزان این صفات نیز به ترتیب با ۱/۶۷ و ۱/۱۸ گرم نسبت به تیمار شاهد آلوده تعلق داشت (جدول ۳ و شکل‌های ۱۲، ۱۳).

ارزیابی شاخص‌های رشدی گیاه

نتایج تجزیه واریانس شاخص‌های رشدی در گلخانه شامل طول ساقه، وزن تر و خشک ساقه، وزن تر و خشک ریشه، نشان داد که اثر تیمار روی همگی صفات در سطح یک درصد (P: %1) معنی‌دار است. بیشترین میزان طول ساقه، به ترتیب با ۳۷/۳۷ سانتی‌متر، وزن تر اندام هوایی ۱۰/۶ گرم و وزن خشک اندام هوایی ۲/۴۳ گرم، مربوط به تیمار قارچ اندوفیت *A. alternata* بدون بیمارگر در خاک بودند. در حالیکه کمترین میزان این صفات به ترتیب با ۱۶/۲۴ سانتی‌متر، ۶/۳۶، ۱/۶۳ گرم در ترکیب تیمار شاهد آلوده



شکل ۱۲- مقایسه ارتفاع گیاه گندم تلقیح شده با قارچ اندوفیت نسبت به شاهد آلوده. A: شاهد آلوده

B: *Alternaria alternata* تلقیح شده

Fig. 12. Comparison of plant height volume .A: Pathogen B: *Alternaria alternata*



شکل ۱۳- مقایسه طول ریشه گیاه گندم تلقیح شده با قارچ‌های اندوفیت در مقایسه با شاهد آلوده

A: *Fusarium acuminatum* B: *Alternaria alternata* C: Pathogen

Fig. 13. Comparison of plant height. A: *Fusarium acuminatum* B: *Alternaria alternata* C: Pathogen

جدول ۳- تاثیر قارچ‌های اندوفیت روی طول ساقه، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه گندم تحت شرایط گلخانه.

Table 3. Effect of endophytic fungi on seedling height, shoot, root wet and dry weight under greenhouse conditions. E1: *Turola fici* E2: *Penicillium pancosmium* E3: *Fusarium acuminatum* E4: *Alternaria alternata*. control: non –Inoculated Pathogen: Inoculated with *Fusarium pseudograminearum*.

Treatment	Seedling height (cm)	Shoot wet Weight(g)	Shoot dry Weight(g)	Root wet Weight(g)	Root dry weight(g)
Control	23.88 f	7.58 f	1.64 e	2.24 d	1.41 de
E1	36.22 b	7.99 e	1.91 c	3.07 c	1.59 d
E2	27.66 d	9.15 b	2.13 b	3.3 bc	2.34 b
E3	27.27 d	9.2 b	2.13 b	5.21 a	3.24 a
E4	37.37 a	10.06 a	2.43 a	3.67 b	2.36 b
Pathogen+E1	33.37 c	7.12 g	1.77 d	1.94 de	1.43 de
Pathogen+E2	24.25 f	8.28 d	1.84 cd	2.87 c	2.17 bc
Pathogen+ E3	26.27 e	7.54 f	1.78 d	3.28 bc	1.94 c
Pathogen+ E4	36.25 b	8.7 c	2.06 b	3.27 bc	1.92 c
Pathogen	16.24 g	6.36 h	1.63 e	1.67 e	1.18 e
LSD	0.770	0.261	0.121	0.438	0.264
P:(1%)					

E1: *Turola fici* E2: *Penicillium pancosmium* E3: *Fusarium acuminatum* E4: *Alternaria alternata*

control: شاهد سالم Pathogen: شاهد آلوده

بحث

قدرت بقای طولانی مدت بیمارگر بصورت تشکیل هاگ مقاوم بنام کلامیدوسپور در بقایای گیاهی یا علف‌های هرز و در اغلب موارد عدم وجود رقم مقاوم با ارزش اقتصادی به فوزاریوم مدیریت این بیماری را دچار مشکل کرده است. روش‌های مدیریت بیماری مبتنی بر بهم زدن چرخه بیماری از طریق برقراری تناوب زراعی با گیاهان غیرمیزبان، از بین بردن بقایای بوته‌های بیمار پس از برداشت محصول، شخم

پوسیدگی فوزاریومی ریشه و طوقه یکی از بیماری‌های مهم گندم در جهان است، که باعث کاهش معنی‌دار محصول می‌گردد. فوزاریوم‌ها قادر به تولید دامنه وسیعی از مایکوتوکسین‌ها هستند که با ورود به چرخه غذایی باعث بروز مشکلاتی برای سلامتی انسان و دام می‌شوند (Xu et al., 2008, Dehghanpour-Farashah et al., 2019a)

T. fici، بیشترین درصد با‌دارندگی از رشد قارچ بیمارگر را داشتند. در این پژوهش کمترین درصد شدت بیماری طوقه و ریشه گندم در گلخانه نسبت به شاهد، با ۲۴/۱۶ درصد مربوط به جدایه *P. pancosmium* بود. جنس پنی‌سیلیوم با بیش از ۲۰۰ گونه، یکی از بزرگترین و جذاب‌ترین گروه‌های قارچی است که به ویژه به عنوان منبعی از آنتی‌بیوتیک‌ها به خوبی شناخته شده است. گونه‌های پنیسیلیوم به دلیل نیازهای غذایی کم و توانایی رشد در طیف وسیعی از شرایط و محیط‌ها، قارچ‌های فراگیری هستند. این گونه‌ها به عنوان اندوفیت از گونه‌های گیاهی متعدد و متنوعی جدا شده‌اند. پنیسیلیوم‌های اندوفیت با نشان دادن عملکردهای بیولوژیکی متنوع می‌توانند برای کاربردهای بی‌شماری از جمله کشاورزی، بیوتکنولوژی و دارویی مورد استفاده قرار گیرند. در طول دو دهه گذشته، گونه‌های اندوفیت پنیسیلیوم فراتر از پتانسیل آنتی‌بیوتیکی خود مورد بررسی قرار گرفته‌اند و دارای کاربردهای متعددی می‌باشند. تاکنون تعداد بسیار زیادی از اندوفیت‌های این جنس مورد بررسی قرار گرفته‌اند و بیش از ۲۸۰ ترکیب با اثرات ضد میکروبی، ضد سرطانی، ضد ویروسی، آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد انگلی، سرکوب‌کننده سیستم ایمنی، ضد دیابتی، ضد چاقی، ضد فیبروتیک، محافظت عصبی و فعالیت‌های حشره‌کشی و کنترل زیستی گزارش شده است (Toghueo & Boyom., 2020). طبق نتایج Mady & Haggag (2020) این جنس به عنوان منبعی از طیف وسیعی از ترکیبات فعال بیولوژیکی مانند آلکالوئیدها، دی‌کتوپیرازین‌ها، استرول‌ها، تریپن‌ها و پلی‌کتیدها شناخته شده است. برخی از ترکیبات مهم فعال بیولوژیکی که توسط قارچ‌های پنیسیلیوم سنتز می‌شوند، پپتیدهای حلقوی دی‌کتوپیرازین‌ها هستند که از بقایای دو اسید آمینه و اسید مولونیک تشکیل شده‌اند. تریپتوفان، هیستیدین و اسید مولونیک پیش‌سازهای بیوسنتزی روکوفورتین و آلکالوئیدهای مرتبط مانند ملاگرین، گلاندی‌کولین‌های A و بوکسالین می‌باشند. سویه‌های مختلف جنس پنیسیلیوم، منابع تولیدی متنوعی از ترپنوئیدها و سزکوئی‌ترین‌های فعال زیستی هستند. این متابولیت‌های ثانویه قارچی طیف

عمیق، تنظیم تاریخ کاشت، مهار زیستی، ضدعفونی بذرها با یک قارچ‌کش حفاظتی و کشت رقم‌های نسبتاً مقاوم است. به نظر می‌رسد که بیماری‌های فوزاریومی تنها با یکی از روش‌های ذکر شده قابل مدیریت نیست و نیاز به استفاده از چندین روش مدیریتی به طور همزمان دارد (McMullen et al., 2012). کنترل زیستی با استفاده از عوامل بیوکنترل مختلف از جمله قارچ‌های اندوفیت یک روش سازگار با محیط زیست و مؤثر برای مدیریت بیماری‌های پوسیدگی‌های فوزاریومی است. قارچ‌های اندوفیت به دلیل پیچیدگی و تنوع ساختاری متابولیت‌های ثانویه خود، به منبع جذابی برای کشف گونه‌های جدید تبدیل شده‌اند و نقش‌های مهمی در رشد و فیزیولوژی گیاه میزبان از جمله افزایش تحمل به تنش خشکی، افزایش رشد ریشه و تأمین مواد مغذی دارند (Toghueo., 2020). مخمرها نیز گروه‌های قارچی هستند که به دلیل سازگاری محیطی خود، همراه با چندین مکانیسم عمل مفید که می‌توانند علیه عوامل بیماری‌زای گیاهی به کار گیرند، توجه فزاینده‌ای را به خود جلب می‌کنند و آنها را در موقعیت مناسبی به عنوان عوامل کنترل زیستی قرار می‌دهند (Petrucchi et al., 2023). مهار زیستی *F. pseudograminearum* توسط گونه‌های *Trichoderma harizianum* و *T. koningii* در شرایط آزمایشگاه موفقیت آمیز بوده است (Wong et al., 2002). اثر *Piriformospora indica* روی *F. culmorum* و *F. graminearum* عامل پوسیدگی طوقه و ریشه گندم در شرایط آزمایشگاه و گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد هر چند *P. indica* اثر تعارضی مستقیمی در کشت متقابل این قارچ اندوفیت و قارچ‌های بیمارگر در شرایط آزمایشگاه ندارد ولی در گلخانه باعث کاهش شدت بیماری می‌شود (Rabiey et al., 2015).

نتایج سنجش توانایی قارچ‌های اندوفیت جداسازی شده در مهار بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه بر اساس آزمون‌های آزمایشگاهی نشان داد، تمامی جدایه‌های مورد بررسی، توانایی مهار بیمارگر را با درجات مختلف را، دارا بودند. از بین نه جدایه قارچ اندوفیت جداسازی شده، چهار جدایه منتخب *A. alternata*، *F. acuminatum*، *P. pancosmium*،

فسفر یکی از عناصر ضروری برای رشد گیاه است (دخیل در فتوسنتز، ساختار DNA، جزئی از مولکول‌هایی مانند ATP و GTP، عملکرد آنزیم‌ها، تحریک رشد ریشه و جوانه زنی). اما در خاک به سرعت به شکل‌های نامحلول مثل کلسیم فسفات تبدیل می‌شوند و برای گیاهان غیرقابل جذب می‌گردند. بنابراین کارایی کودهای فسفاته معمولاً پایین می‌باشد.

میکروارگانیسم‌های حل‌کننده فسفات (Phosphate Solubilizing Microorganisms) گروهی از ارگانیسم‌ها هستند که از اکتینوباکتری‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها (بیشترین گزارش‌ها شامل جنس‌های *Penicillium*، *Fusarium*، *Aspergillus*، *Alternaria*، *Helminthosporium* و *Arthrotrichum*)، میکوریزای آربوسکولار و سیانوباکتری‌ها تشکیل شده‌اند و قادر به هیدرولیز فسفر آلی و معدنی به اشکال محلول هستند و بنابراین آن را برای گیاهان از نظر زیستی در دسترس قرار می‌دهند. استفاده از این میکروارگانیسم‌ها در خاک‌های کم فسفر منجر به افزایش جوانه زنی، رشد ریشه و افزایش عملکرد دانه گندم شده است (Silva et al., 2023). روی، عنصر مهمی برای رشد گیاهان می‌باشد، اهمیت آن در فعالیت آنزیمی، فتوسنتز، تنظیم هورمونی، توسعه ریشه، مقاومت در برابر تنش‌ها و کیفیت محصول ثابت شده است. نتایج بررسی توانایی قارچ‌های اندوفیت گندم در انحلال فسفات و روی نشان داد که برخی از این قارچ‌ها با تولید اسیدهای آلی و کاهش pH محیط، می‌توانند منابع نامحلول روی و فسفات را به فرم‌های قابل جذب برای گیاه تبدیل کنند (Gupta et al., 2024).

در این پژوهش، جدایه‌های *Fusarium acuminatum* و *Alternaria alternata* در شرایط گلخانه موجب بهبود شاخص‌های رشد گندم شدند. تیمار *A. alternata* در غیاب عامل بیمارگر، به ترتیب سبب ۴۹/۵۶ درصد افزایش در طول ساقه و ۷۱/۳۲ درصد افزایش در وزن تر و خشک اندام هوایی نسبت به شاهد گردید.

افزون بر این، کاربرد این جدایه در حضور عامل بیمارگر *Fusarium pseudograminearum* نیز اثر محافظتی قابل

گسترده‌ای از خواص بیولوژیکی و دارویی از جمله فعالیت‌های ضد باکتری، ضد التهابی، ضد توموری، ضد قارچی، کاهش دهنده کلسترول و سرکوب کننده سیستم ایمنی را از خود نشان می‌دهند (Mady & Haggag, 2020). علاوه بر این، چندین گونه پنی‌سیلیوم اندوفیت به عنوان کاتالیزورهای زیستی، محرک‌های رشد گیاه، واسطه‌های گیاهی و تولیدکنندگان آنزیم شناخته شده‌اند. این سبک زندگی اندوفیتی به گونه‌های پنی‌سیلیوم توانایی محافظت از گونه‌های گیاهی در برابر تنش‌های زیستی، افزایش رشد گیاه و محافظت از میزبان در برابر حمله عوامل بیماری‌زا، از طریق تولید ترکیبات آنتاگونیستی را می‌دهد (Raghu et al., 2015). طبق گزارش (Rojas et al., 2022)، قارچ اندوفیت *Penicillium olsonii* ML37 یک عامل کنترل زیستی بیماری بلایت فوزاریومی سنبه در گندم (ناشی از *Fusarium graminearum*) است که باعث مهار مستقیم از رشد قارچ در شرایط آزمایشگاهی می‌گردد. نتایج آزمایش‌های گلخانه‌ای نشان داد *P. olsonii* ML37 از طریق فعال‌سازی دفاع موضعی زود هنگام در خوشه‌های گندم، منجر به کاهش علائم FHB (Fusarium Head Blight) می‌شود و این قارچ پتانسیل تبدیل شدن به یک جایگزین بیولوژیکی جدید در کنترل بیماری گندم را دارد (Rojas et al., 2022). یکی از ویژگی‌های قارچ‌های اندوفیت به عنوان یک عامل محرک رشد گیاه، توانایی آن‌ها در حل کردن روی، فسفر و تولید سیدروفور است. در این پژوهش نیز جدایه‌های *P. F. acuminatum*، *T. fici*، *A. alternata*، *pancosmium* دارای بیشترین میزان توانایی انحلال فسفات و روی بودند. توانایی تولید سیدروفور نیز متعلق به جدایه *T. fici* می‌باشد. سیدروفورها مولکول‌های آلی با وزن مولکولی پایین هستند که به جذب آهن در شرایط کمبود آن کمک می‌کند و به طور غیرمستقیم در دسترس بودن عناصر دیگری مثل روی و فسفر هم، اثر مثبت دارند. این ترکیبات با تشکیل کمپلکس‌های محلول باعث افزایش قابلیت جذب ریز مغذی‌ها در ریزوسفر می‌شوند (Singh et al., 2022).

یک سویه از *F. solani* از طریق القای ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی، مقاومت سیستمیک را در گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده به *Septoria lycopersici* ایجاد نمود. در گیاه جو، وجود اندوفیت *F. oxysporum* توانست مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زای مهاجم ایجاد کند (Toghueo., 2020). گزارش شده است که متابولیت‌های تولید شده توسط چندین گونه *Fusarium* رشد گیاهان را نیز افزایش می‌دهند به عنوان مثال، مطالعه (Zhong et al., 2016) نشان داد که پلی‌ساکاریدهای به‌دست‌آمده از اندوفیت *F. oxysporum*، رشد جوانه، تجمع فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گندم سیاه را تحریک می‌کنند (Zhong et al., 2016) داده‌های ارائه شده، توانایی گونه‌های فوزاریوم را به عنوان یک جزء مهم گیاه میزبان و پتانسیل استفاده از این گونه‌های اندوفیت را برای محدود کردن تأثیر تنش‌های غیرزیستی بر گیاهان زراعی و بهبود عملکرد تولید تأیید می‌کنند. همچنین این داده‌ها از نتایج این پژوهش مبنی بر تأثیر قارچ فوزاریوم بر افزایش شاخص‌های رشدی گیاه پشتیبانی می‌کنند.

پیشنهادهات

بر اساس نتایج این پژوهش، قارچ‌های اندوفیت گندم می‌توانند به عنوان عوامل کنترل زیستی و نیز محرک رشد در تحقیقات آتی مورد استفاده قرار گیرند. لذا انجام مطالعات تکمیلی در زمینه بررسی کنترل بیماری و افزایش رشد گندم در شرایط مزرعه‌ای و نیز مطالعات کاربردی در زمینه تکثیر و فرمولاسیون جدایه‌های برتر، پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

از همکاری شایسته گروه گیاه‌پزشکی، معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان و حمایت مالی پارک علم و فناوری گلستان در انجام این پژوهش صمیمانه تقدیر و تشکر می‌شود.

توجهی نشان داد؛ به‌طوری‌که به‌ترتیب از کاهش ۱۲۳ درصدی (بیش از دو برابر) طول ساقه، ۷۹/۳۶ درصدی وزن‌تر اندام هوایی و ۳۸/۲۶ درصدی وزن خشک اندام هوایی در اثر آلودگی به این بیمارگر، جلوگیری شد. این نتایج بیانگر نقش مؤثر *A. alternata* در ارتقای رشد گیاه و کاهش خسارت ناشی از بیماری است.

همچنین در مطالعه (Hatamzadeh et al (2022)، برخی قارچ‌های اندوفیت جداشده، از جمله *Alternaria consortiale*، موجب افزایش چشمگیر پارامترهای رشدی گیاه تا حدود سه برابر نسبت به شاهد گردید (Hatamzadeh et al., 2020). در پژوهشی که توسط (Zhang et al (2014) درباره پتانسیل کنترل زیستی قارچ‌های اندوفیت علیه *Botrytis cinerea* و *Sclerotinia sclerotiorum* در کلزا انجام شد، غالبیت گونه‌های موثر مربوط به *A. alternata* بود. علاوه بر این، گونه‌های CanL-18 *A. alternata*، اثرات محرک رشد بر کلزا نشان دادند (Zhang et al., 2014).

به کارگیری تیمار *F. acuminatum* بدون عامل بیمارگر در گندم موجب افزایش به ترتیب ۱۳۲ و ۱۲۹ درصدی وزن تر و خشک ریشه نسبت به شاهد گردید. همچنین جلوگیری از کاهش به ترتیب ۹۶/۴۰، ۶۴/۴۰ درصدی از وزن تر و خشک ریشه در تیمار این قارچ در حضور بیمارگر، مشاهده شد. جنس فوزاریوم شامل حدود ۷۰ گونه است، از نظر ژنتیکی، زیست‌شناسی، بوم‌شناسی و در نتیجه، متابولیسم ثانویه بسیار متغیر است و از جنس‌های بی‌شماری از گیاهان از زیستگاه‌های متنوع جدا شده است. این اندوفیت‌ها با تولید مجموعه‌ای از متابولیت‌های ثانویه شیمیایی متنوع و از نظر ساختاری بی‌سابقه، استراتژی‌های محافظت و بقا را در گیاهان میزبان خود فراهم می‌کنند. پتانسیل تأثیر اندوفیت‌های فوزاریوم بر فیزیولوژی گیاه و بهبود سیستم دفاعی گیاه به طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته است.

References

- Akrami, M. & Yousefi, Z. 2015. Biological control of *Fusarium* wilts of tomato (*Solanum lycopersicum*) by *Trichoderma* spp. as antagonist fungi. *Biological Forum*, 7(1): 887–892.
- Araghi, M.M. & Rahn timer, K. 2008. Evaluation of biological control of *Fusarium graminearum* by two antagonist fungi *Trichoderma virens* and *Trichoderma harzianum* in vitro. *Pajouhesh-Va-Sazandegi*, 81: 197–199. (In Persian with English summary).
- Barnett, H.L. & Hunter, B.B. 1998. *Illustrated genera of imperfect fungi*. vol Ed. 4. American Phytopathological Society (APS Press) Dingle, J. & Mcgee, DA. 2003. Some endophytic fungi reduce the density of pustules of *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* in wheat.
- Bilal, L., Asaf, S., Hamayun, M., Gul, H., Iqbal, A., Ullah, I. & Hussain, A. 2018. Plant growth promoting endophytic fungi *Aspergillus fumigatus* TS1 and *Fusarium proliferatum* BRL1 produce gibberellins and regulates plant endogenous hormones. *Symbiosis*, 76(2): 117–127.
- De Hoog, G.S., Guarro, J., Gene, J. & Figueras, M.J. 2000. *Atlas of clinical fungi*. 2nd edition. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, 1126 pp.
- Dehghanpour-Farashah, S., Taheri, P. & Falahati-Rastegar, M. 2019. Virulence factors of *Fusarium* spp., causing wheat crown and root rot in Iran. *Phytopathologia Mediterranea*, 58(1): 115–126.
- Dennis, C. & Webster, J. 1971. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: I. Production of non-volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, 57(1): 25–IN3.
- Etebarian, H.R., Sholberg, P.L., Eastwell, K.C. & Sayler, R.J. 2005. Biological control of apple blue mold with *Pseudomonas fluorescens*. *Canadian Journal of Microbiology*, 51(7): 591–598.
- Fontana, D.C., de Paula, S., Torres, A.G., de Souza, V.H. M., Pascholati, S.F., Schmidt, D. & Dourado Neto, D. 2021. Endophytic Fungi: Biological Control and Induced Resistance to Phytopathogens and Abiotic Stresses. *Pathogens*, 10(5): 570.
- Gupta, R., Kumar, R., Al-Qahtani, W.H., & Abdel-Maksoud, M.A. 2024. Exploring the uncharted: Zinc and phosphate solubilization in Zn-P isolates from wheat rhizosphere inceptisols. *Journal of King Saud University-Science*, 36(11): 103509.
- Hatamzadeh, S., Rahn timer, K., White, J.F., Akbari Oghaz, N., Nasrollahnejad, S. & Hemati, KH. 2022. Investigation of some endophytic fungi from five medicinal plants with growth promoting ability on maize (*Zea mays* L.). *Journal of Applied Microbiology*, 134(1): 1–15.
- Hosseinnejad fujerdi, Z., Rahn timer, K., Movahedi, A. & Hatamzadeh, S. 2025. First report on the identification of some endophytic fungi of wheat (*Triticum aestivum* L.) from the fields of Golestan province. 25th Iranian Plant Protection Congress, 7–10 Sep, Tehran, Iran.
- Jaber, L.R. 2018. Seed inoculation with endophytic fungal entomopathogens promotes plant growth and reduces crown and root rot (CRR) caused by *Fusarium culmorum* in wheat. *Planta*, 248(6): 1525–1535.
- Leplat, J., Friberg, H., Abid, M. & Steinberg, C. 2012. Survival of *Fusarium graminearum*, the causal agent of *Fusarium* head blight. A review. *Agronomy for sustainable development*, 33(1): 97–111.
- Lillbro, M. 2005. Biocontrol of *Penicillium roqueforti* on grain: A comparison of mode of action of several yeast species (Doctoral dissertation, Sveriges lantbruksuniversitet).
- Mady, M. & Haggag, E. 2020. Review on fungi of genus *Penicillium* as a producer of biologically active polyketides. *Journal of Advanced Pharmacy Research*, 4(2): 33–45.
- Maghsodloo, R., Taheri, A. & Rahn timer, k. 2007. Identification and pathogenicity of *Fusarium* spp. isolated from root and crown of wheat in Gorgan area. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 14(2): 175–189.
- Moya, E.A. 2013. *Fusarium* crown rot disease: biology, interactions, management and function as a possible sensor of global climate change. *Ciencia e investigación agraria: revista latinoamericana de ciencias de la agricultura*, 40(2): 235–252.
- Nair, D.N. & Padmavathy, S.J.T.S.W.J. 2014. Impact of endophytic microorganisms on plants, environment and humans. *The Scientific World Journal*, 2014(1): 250693.
- Nelson, P.E., Toussoun, T.A. & Marasas, W.F.O. 1983. *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press, University Park.
- Ofek-Lalzar, M., Gur, Y., Ben-Moshe, S., Sharon, O., Kosman, E., Mochli, E. & Sharon, A. 2016. Diversity of fungal endophytes in recent and ancient wheat ancestors *Triticum dicoccoides* and *Aegilops sharonensis*. *FEMS microbiology ecology*, 92(10): fiw152.
- Petrucchi, A., Khairullina, A., Sarrocco, S., Jensen, D.F., Jensen, B., Jørgensen, H.J.L. & Collinge, D.B. 2023. Understanding the mechanisms underlying biological control of *Fusarium* diseases in cereals. *European Journal of Plant Pathology*, 167(4): 453–476.
- Pharis, R. P. & King, R. W. 1985. Gibberellins and reproductive development in seed plants. *Annual review of plant physiology*, 36(1): 517–568.
- Rabiey, M., Ullah, I. & Shaw, M.W. 2015. The endophytic fungus *Piriformospora indica* protects wheat from *fusarium* crown rot disease in simulated UK autumn conditions. *Plant Pathology*, 64(5): 1029–1040.

- Raghu, G., Rochwerf, B., Zhang, Y., Garcia, C.A.C., Azuma, A., Behr, J. & Schünemann, H.J. 2015. An official ATS/ERS/JRS/ALAT clinical practice guideline: treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. An update of the 2011 clinical practice guideline. American journal of respiratory and critical care medicine, 192(2): e3–e19.
- Rashmi, M., Kushveer, J.S. & Sarma, V.V. 2019. A worldwide list of endophytic fungi with notes on ecology and diversity. Mycosphere, 10(1): 798–1079.
- Ripa, F.A., Cao, W.D., Tong, S. & Sun, J.G. 2019. Assessment of plant growth promoting and abiotic stress tolerance properties of wheat endophytic fungi. BioMed Research International, 2019(1): 6105865.
- Rojas, E.C., Jensen, B., Jørgensen, H.J., Latz, M.A., Esteban, P. & Collinge, D.B. 2022. The fungal endophyte *Penicillium olsonii* ML37 reduces Fusarium head blight by local induced resistance in wheat spikes. Journal of Fungi, 8(4): 345.
- Răut, I., Călin, M., Capră, L., Gurban, A.M., Doni, M., Radu, N. & Jecu, L. 2021. *Cladosporium* sp. Isolate as Fungal Plant Growth Promoting Agent. Agronomy, 11(2): 392.
- Silva, L.I.D., Pereira, M.C., Carvalho, A.M.X.D., Buttrós, V.H., Pasqual, M. & Dória, J. 2023. Phosphorus–solubilizing microorganisms: a key to sustainable agriculture. Agriculture, 13(2): 462.
- Smiley, R.W. .2010. *Fusarium* root, crown and foot rots and associated seedling diseases. Pp. 37–39. In: WW Bockus, RL Bowden, RM Hunger, WL Morrill, TD Murray, RW Smiley (eds.). Compendium of Wheat Diseases and Pests. APS Press, USA.
- Singh, P., Chauhan, P.K., Upadhyay, S.K., Singh, R.K., Dwivedi, P., Wang, J. & Jiang, M. 2022. Mechanistic insights and potential use of siderophores producing microbes in rhizosphere for mitigation of stress in plants grown in degraded land. Frontiers in microbiology, 13: 898979.
- Syamsia, S., Idhan, A., Firmansyah, A.P., Noerfitryani, N., Rahim, I., Kesaulya, H. & Armus, R. 2021. Combination on endophytic fungal as the plant growth–promoting fungi (PGPF) on cucumber (*Cucumis sativus*). Biodiversitas Journal of Biological Diversity, 22(3).
- Toghueo, R.M.K. & Boyom, F.F. 2020. Endophytic *Penicillium* species and their agricultural, biotechnological, and pharmaceutical applications, 3 Biotech, 10(3): 107.
- Toghueo, R.M.K. 2020. Bioprospecting endophytic fungi from *Fusarium* genus as sources of bioactive metabolites. Mycology, 11(1): 1–21.
- Waller, F., Achatz, B., Baltruschat, H., Fodor, J., Becker, K., Fischer, M., Kogel, K. H. 2005. The endophytic fungus *Piriformospora indica* reprograms barley to salt–stress tolerance, disease resistance, and higher yield. Proceedings of the National Academy of Sciences, 102(38): 13386–13391.
- White, J. F., Kingsley, K. L., Zhang, Q., Verma, R., Obi, N., Dvinskikh, S. & Kowalski, K.P. 2019. Endophytic microbes and their potential applications in crop management. Pest management science, 75(10): 2558–2565.
- Wong, P.T.W., Mead, J.A. & Croff, M.C. 2002. Effect of temperature, moisture, soil type and *Trichoderma* species on the. Australasian Plant Pathology, 31(3): 253–257.
- Xu, X.M., Nicholson, P., Thomsett, M.A., Simpson, D., Cooke, B.M., Doohan, F.M. & Edwards, S.G. 2008. Relationship between the fungal complex causing *Fusarium* head blight of wheat and environmental conditions. Phytopathology, 98(1): 69–78.
- Zhang, Q., Zhang, J., Yang, L., Zhang, L., Jiang, D., Chen, W. & Li, G. 2014. Diversity and biocontrol potential of endophytic fungi in Brassica napus. Biological control, 72: 98–108.
- Zhong, L., Niu, B., Tang, L., Chen, F., Zhao, G. & Zhao, J. 2016. Effects of polysaccharide elicitors from endophytic *Fusarium oxysporum* Fat9 on the growth, flavonoid accumulation and antioxidant property of *Fagopyrum tataricum* sprout cultures. Molecules, 21(12): 1590.

Evaluation of Wheat–Derived Endophytic Fungi in the Biological Control of Fusarium Crown and Root Rot and determination of physiological characteristics

Zahra Hosseinnejad Fajerdi¹, Kamran Rahnama², James White³,
Alireza Movahedi Naeini⁴, Sareh Hatamzade⁵

1., 2. Ph.D. Student of plant pathology, Professor, Department of Plant Protection, Faculty of plant production, Gorgan University of Agricultural sciences and Natural Resources, Golestan, Iran.

3. Professor, Department of Plant Biology, School of Environmental and Biological Sciences, Rutgers University, New Brunswick, NJ 08901, USA.

4. Associate Professor., Department of Soil Sciences, Faculty of Water and Soil Engineering, Gorgan University of Agricultural sciences and Natural Resources, Golestan, Iran.

5. Research and Development scientist, Department of Agricultural Sciences, Sara Gene Pardis Co., Gorgan, Golestan, Iran.

Corresponding author: Kamran Rahnama, email: rahnama@gau.ac.ir

Received: Sep., 26, 2025

12(2) 13–31

Accepted: Dec., 08, 2025

Abstract

Wheat (*Triticum aestivum* L.) is one of the world's most strategic crops and a primary staple food for a large portion of the global population. Fusarium crown and root rot (FCR) is the most common disease of wheat and is of global importance, reduces yield and quality of the product. The use of beneficial microbial symbiosis of plants to improve productivity is one of the most important sustainable agricultural practices. One of the most important and effective alternative methods for environment of agroecology protection and reducing their risks is biocontrol using different agents such as endophytic fungi. For this purpose, the endophytic fungal isolates and pathogenic isolates from leaves, pods, stems and roots of wheat plants of Golestan province were isolated and purified on nutrient agar media with antibiotics. Then, out of 40 endophytic fungal isolates obtained, nine endophytic isolates and one pathogenic isolate were morphologically and molecularly identified with the ITS4 and ITS primer pairs. The characteristics of endophyte isolates as plant biostimulants were evaluated through several experiments such as: the antagonistic effect of nine endophyte fungi against the pathogenic *Fusarium pseudograminearum* isolate, the cause of crown and root rot disease, zinc and phosphorus solubilization, siderophore production, and measurement of wheat plant growth indices under different treatments in the greenhouse. The results showed that, in dual culture method, the highest percentage of inhibition rate against the growth of *F. pseudograminearum* with 69.49, 66.06, 63.68 were related to the isolates of *Alternaria* sp., *Penicillium pancosmium*, and *Alternaria alternata*, respectively. In the volatile metabolite's method, *A. alternata* with 50.78% inhibition showed the highest percentage of inhibition of *F. pseudograminearum*. In the non-volatile compounds test, the *A. alternata* isolate had the highest percentage of inhibition rate against the growth of *F. pseudograminearum* with 20.59, 28.52, and 43.83, respectively, in extract ratios of 10–20–30 percent. In the phosphorous and zinc solubilization test, the highest levels were related to the *Fusarium acuminatum*, *P. pancosmium*, *A. alternata*, and *Turola fici* isolates, respectively, and in the siderifore production assay, only the *T. fici* isolate had the ability to produce siderifore. In the greenhouse conditions, the highest percentage of control of wheat crown and root rot disease 23.68% was obtained with *P. pancosmium*. In the interaction of isolates, at the probability level of one percent, the *A. alternata* treatment without the pathogen caused the greatest increase in growth indices including height, fresh and dry weights of shoots with 130.11, 58.17, and 49.07 percent, respectively, and the greatest increase in fresh and dry weights of roots with 119.76 and 100 percent, respectively, compared to the infected control belonging to the *F. acuminatum* treatment without the pathogen. This study presents the first report of these native isolates from the Golestan region.

Keywords: Wheat endophyt, Biological Control, Crown and root rot, volatile metabolite, Growth index, phosphorous.