

مقاله تحقیقی

ارزیابی کارایی فرمولاسیون‌های حاوی قارچ *Trichoderma harzianum* در کنترل بیولوژیک *Verticillium dahliae* Kleb. و تأثیر آن‌ها روی پارامترهای رشد خیارصبا سوهانگر^۱، شهرام نعیمی^۲، حمیدرضا زمانی‌زاده^۳، سعید رضائی^۴

۱، ۳، ۴- دانشجوی دکترا، استاد، استادیار، گروه گیاه پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- دانشیار، بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک، مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

مسئول مکاتبات: شهرام نعیمی، ایمیل: sh.naeimi@areeo.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۰۷

۶۴-۴۹ (۲) ۱۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۲۴

چکیده

خیار مهم‌ترین محصول گلخانه‌ای در کشور است. قارچ *Verticillium dahliae*، یکی از بیمارگرهای خطرناک در بسیاری از گیاهان زراعی و باغی از جمله خیار بوده و باعث ایجاد خسارت‌های قابل توجه به محصولات کشاورزی می‌شود. کنترل بیولوژیک، شیوه‌ای بی‌خطر و مطلوب برای مدیریت بیماری همراه با کاهش مصرف قارچکش‌های شیمیایی به ویژه در گلخانه‌ها می‌باشد. این تحقیق با هدف فرمانتاسیون و فرمولاسیون سویه بیوکنترل منتخب *Trichoderma* و ارزیابی کارایی بیولوژیک فرمولاسیون‌ها در گلخانه انجام شد. برای این منظور، ابتدا توان آنتاگونیستی ۲۹ سویه تریکودرما علیه قارچ بیمارگر با روش کشت متقابل در آزمایشگاه مورد ارزیابی قرار گرفت. سپس، فرمانتاسیون جامد سویه منتخب در بستر بذر گندم به مدت یک ماه در دمای اتاق انجام شد. در مرحله بعد، بستر کلونیزه شده داخل آون خشک شده و کنیدی‌های تریکودرما با استفاده از دستگاه برداشت کنیدی‌های قارچ، استحصال شدند. کنیدی‌ها با مواد حامل (کائولین و خاک دیاتومه) و چسباننده (کربوکسی متیل سلولز و صمغ عربی) مخلوط شدند. عمر انبارداری فرمولاسیون‌ها تا شش ماه در دو دمای اتاق و یخچال تعیین شد. کارایی فرمولاسیون‌ها با سه روش کاربرد (تیمار بذر، غوطه‌ور کردن ریشه نشاها و اضافه کردن به خاک) در کنترل بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی و افزایش پارامترهای رشد خیار مورد ارزیابی قرار گرفتند و با شاهد سالم و آلوده مقایسه شدند. در آزمون کشت متقابل، همه سویه‌های تریکودرما با بیش از ۵۰ درصد ممانعت از رشد میسلیومی، خاصیت آنتاگونیستی قابل توجهی علیه قارچ *V. dahliae* نشان دادند. در این میان، دو سویه SRV200 و DS303 متعلق به گونه *T. harzianum*، با ۷۷/۱ درصد بازدارندگی از رشد بیمارگر، مؤثرترین سویه‌های بیوکنترل بودند. عمر انبارداری فرمولاسیون‌ها بعد از شش ماه نگهداری در هر دو دما، کاهش نشان داد و این روند نزولی جمعیت زنده قارچ در دمای یخچال به مراتب کم‌تر بود. با این حال، جمعیت نهایی در هر دو دمای اتاق و یخچال، بالا بود (به ترتیب بیش از 10^9 و 10^{10} CFUs/g). همه فرمولاسیون‌های حاوی تریکودرما بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی خیار را کنترل کردند (با کارایی بیش از ۴۵ درصد). در این میان، تیمار HDC-RD (فرمولاسیون شامل کنیدی‌های تریکودرما، خاک دیاتومه و کربوکسی متیل سلولز و روش غوطه‌ور کردن ریشه نشاها) با شاخص بیماری ۱۰ درصد، کمترین میزان شدت بیماری را نشان داد و به اندازه ۹۰ درصد بیماری را کنترل کرد. همچنین، تیمارهای HDC-RD و HKG-RD (فرمولاسیون شامل کنیدی‌های تریکودرما، کائولن و صمغ عربی و روش غوطه‌ور کردن ریشه نشاها) باعث افزایش معنی‌دار همه پارامترهای رشدی خیار (به جز طول ریشه) نسبت به شاهد آلوده شدند و با شاهد سالم اختلاف معنی‌دار آماری نداشتند. نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد فرمولاسیون‌های حاوی تریکودرما پتانسیل بالایی در کنترل مؤثر بیماری پژمردگی ورتیسیلیومی و افزایش رشد خیار داشته و

می‌تواند به عنوان یک جایگزین مطمئن برای قارچکشی‌های شیمیایی در راستای کشاورزی پایدار و تأمین سلامت مصرف‌کنندگان و تحقق امنیت غذایی در کشور مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: فرماتاسیون، مهار زیستی، آنتاگونیست، تریکودرما، روش‌های کاربرد، افزایش رشد، گلخانه

مقدمه

خیار (*Cucumis sativus* L.) با سطح زیر کشت ۸۰۰۰ هکتار و تولید ۱/۹ میلیون تُن، اولین محصول گلخانه‌ای و چهارمین محصول باغبانی کشور بوده و سهم ۷/۴۶ درصدی از کل محصولات باغبانی ایران را به خود اختصاص داده است (آمارنامه کشاورزی سال ۱۴۰۲، جلد سوم: محصولات باغی، قارچ و گلخانه‌ای). علاوه بر این، خیار در سطح ۱۷۸۰۰ هکتار از اراضی زراعی کشور به صورت آبی و دیم کشت می‌شود (آمارنامه کشاورزی سال ۱۴۰۲، جلد اول: محصولات زراعی).

Verticillium dahliae Kleb. یک بیمارگر خاکزی و با دامنه میزبانی بسیار وسیع است که بیش از ۳۸ خانواده و ۶۰۰ گونه گیاهی از جمله خیار را آلوده کرده و یک تهدید جدی برای کشاورزی و منابع طبیعی به شمار می‌رود (Carroll et al., 2018; Kong et al., 2022). این بیمارگر قادر است گیاهان میزبان را در هر مرحله‌ای از رشد آلوده کند و باعث ایجاد زردی، نکروز، تغییر رنگ بافت آوندی، پیچیدگی برگ و کوتولگی می‌شود. اما مهم‌ترین خطرناک‌ترین تظاهر ناشی از حمله قارچ، پژمردگی در میزبان‌های گیاهی است (*Verticillium wilt*) که خسارات اقتصادی قابل توجهی به محصولات زراعی و باغی در جهان وارد می‌کند (Rahman et al., 2023). در ایران نیز این قارچ بیمارگر باعث ایجاد بیماری به ویژه پژمردگی در محصولات مهم کشاورزی از جمله زیتون، پسته، پنبه، سیب زمینی و بادام می‌شود و خسارت‌های جدی به بار می‌آورد. این بیمارگر از مناطق مختلف کشت خیار گلخانه‌ای در کشور جداسازی و گزارش شده و یکی از مهمترین بیماری‌های این محصول به شمار می‌رود (Saberi et al., 2013). این قارچ به دلیل تولید ساختارهای مقاوم به نام میکرواسکلروت یا ریزسختینه، می‌تواند تا بیش از ده سال در غیاب میزبان گیاهی در خاک زنده بماند و بنابراین، کنترل

بیماری‌های ناشی از آن، به عنوان یکی از چالش‌های مهم در مدیریت بیماری‌های گیاهی شناخته می‌شود (Zhu et al., 2023). ارقام مقاوم در دسترس نبوده و تناوب زراعی نیز به دلیل ماندگاری بالای عامل بیماری در خاک و نیز دامنه میزبانی وسیع نمی‌تواند به عنوان روش مناسب و قطعی در برنامه مدیریت بیماری مورد استفاده قرار گیرد (Khan et al., 2004).

امروزه تولیدکنندگان محصولات گلخانه‌ای برای کنترل بیماری‌های گیاهی از انواع قارچکشی‌های شیمیایی استفاده می‌کنند که ضمن کارایی پایین به دلیل خاکزاد بودن عامل بیماری و متحمل شدن هزینه‌های گزاف، منجر به مسائل و مشکلات بغرنج بهداشتی و زیست محیطی شامل مخاطرات جدی سلامتی برای مصرف‌کنندگان، اثرات سوء بر موجودات غیرهدف و احتمال بروز مقاومت در بیمارگرها می‌شود. با توجه به محدودیت‌ها و مشکلات اشاره شده در مدیریت این بیماری، استفاده از روش‌های تلفیقی با تأکید بر روش‌های غیرشیمیایی و به ویژه کنترل بیولوژیک به عنوان جایگزین روش شیمیایی که مؤثر، کم‌خطر و دوست‌دار محیط زیست باشند، ضروری است (Deketelaere et al., 2017; Kowalska, 2021). کاربرد قارچ‌کش‌های بیولوژیک همواره به عنوان یک روش‌های مؤثر و جایگزین آفتکش‌های شیمیایی در مدیریت بیماری‌های گیاهی به ویژه در گلخانه مورد توجه بوده است (McGrath, 2001). بنابراین، معرفی و تجاری سازی فرمولاسیون‌های عوامل کنترل بیولوژیک مؤثر و ارائه روش‌های کاربرد صحیح آن‌ها به گلخانه‌داران و کشاورزان در کشور، ضمن کنترل و کاهش خسارت این گروه از بیماری‌ها با استفاده از شیوه مؤثر، ایمن و پایدار، تضمین‌کننده صادرات محصولات سالم و یا با مقادیر مجاز باقیمانده آفتکش‌های شیمیایی به خارج از کشور نیز خواهد بود.

وجود دارند (Harman et al., 2004). گونه‌های *Trichoderma* به علت داشتن مکانیسم‌های متنوع آنتاگونیستی مانند رقابت بر سر جا و مواد غذایی، میکوپارازیتسم و تولید متابولیت‌های ثانویه (طیف وسیعی از آنزیم‌ها و آنتی‌بیوتیک‌ها)، می‌توانند رشد و توسعه بیمارگرهای گیاهی مختلف را مهار کنند (Druzhinina et al., 2005; Prasetyawan & Sulistyowati, 2018; Contreras-Soto et al., 2025; Susanna et al., 2024).

به همین ترتیب، *Trichoderma* مهم‌ترین جنس قارچی است که به صورت تجاری در آمده است و سهم بزرگی از بازار فرآورده‌های بیولوژیک تجاری به گونه‌های تریکودرما اختصاص دارد (Verma et al., 2007). بیش از ۱۵۰ قارچکش بیولوژیک و کود زیستی تجاری ثبت شده بر پایه سویه‌های مختلف ۱۱ گونه تریکودرما در قالب ۱۰ فرمولاسیون مختلف در بازارهای جهانی موجود است و در حال حاضر، در سراسر دنیا به عنوان یک جایگزین مناسب برای قارچکش‌ها و کودهای شیمیایی به کار می‌روند (Woo et al., 2022). نکته بسیار مهم در فرآیند تجاری‌سازی عوامل کنترل بیولوژیک پس از انتخاب سویه مناسب و مؤثر، در نظر گرفتن موارد حساس و حیاتی نظیر تکثیر انبوه، فرمولاسیون، عمر انبارداری (زنده مانی) و روش‌های کاربرد در محیط‌های طبیعی گلخانه و مزرعه می‌باشد (Deketelaere et al., 2017). تکثیر تریکودرما بر روی بسترهای آلی و قابل تجزیه زیستی (biodegradable substrates) با عمر انبارداری طولانی برای کاربرد در مزرعه سودمند خواهد بود (Thangavelu et al., 2004). امروزه چندین فرمولاسیون تجاری از گونه‌های مختلف تریکودرما بر اساس مواد حامل خنثی (inert carriers) و افزودنی‌های مختلف (adjuvants) برای کنترل بیولوژیک بیماری‌های گیاهی وجود دارد (Martinez et al., 2023; Rodrigues et al., 2023).

کنترل بیولوژیک *V. dahliae*، به صورت مجزا یا در قالب یک برنامه مدیریت تلفیقی، به عنوان یکی از موثرترین پایدارترین روش‌ها در کنترل بیماری‌های ناشی از این قارچ شناخته شده است (Carrero-Carron et al., 2018; Sun et al., 2023).

طی چند دهه اخیر، تحقیقات زیادی بر روی شناسایی میکروارگانیسم‌های مفید برای مهار بیمارگرهای گیاهی در ایران انجام شده است. اکثر موفقیت‌های به دست آمده در زمینه کنترل بیولوژیک، در سطح آزمایشگاهی بودند و تحقیقات مربوط به تولید انبوه آنتاگونیست‌ها و فرمولاسیون قارچکش‌های بیولوژیک و ارزیابی کارایی آن‌ها در شرایط طبیعی گلخانه و مزارع، کم‌تر انجام شده است. عدم وجود دانش کافی در زمینه روش‌های تولید انبوه و فرمولاسیون مناسب و مؤثر عوامل بیوکنترل از موانع اساسی در کنترل بیولوژیک مؤثر بیماری‌های گیاهی در مزرعه به شمار می‌رود (Martinez et al., 2023). یکی از فاکتورهای مهم در کاربرد موفق عامل بیوکنترل، تولید انبوه عوامل مذکور با فعالیت حیاتی بالا می‌باشد و فرمولاسیون مناسب عوامل کنترل بیولوژیک بستگی به تولید انبوه مناسب و حفظ قدرت حیاتی (زنده مانی) در انتهای فرآیند دارد (Adekunle et al., 2001). از مهم‌ترین دلایل محدودیت تعداد قارچکش‌های بیولوژیک تجاری، فقدان اثربخشی مطمئن و پایدار، هزینه تولید بالا (ناشی از گران بودن بسترهای کشت)، بازدهی پایین تولید زیست‌توده و نبود صرفه اقتصادی تولید است (Bora et al., 2010). بنابراین، برای تجاری‌سازی یک عامل کنترل بیولوژیک، فرمولاسیون نهایی باید دارای ویژگی‌هایی نظیر تأثیر بالا، طول انبارداری زیاد، کاربرد آسان، ایمن برای محیط زیست و هزینه پایین تولید باشد (Spadaro & Gullino, 2005).

Trichoderma مشهورترین و مؤثرترین جنس قارچی در زمینه کنترل بیولوژیک بیمارگرهای مختلف گیاهی در محصولات زراعی، باغی، گلخانه‌ای و پس از برداشت است (Harman & Kubicek, 1998). علاوه بر این، بعضی از سویه‌های این جنس، همزیست‌های غیر بیماریزای گیاهان هستند و باعث افزایش رشد گیاه و عملکرد محصول و نیز القای مقاومت گیاه به بیمارگرهای مختلف می‌شوند. اعضای این جنس، همه‌جایی (ubiquitous) بوده و در مناطق جغرافیایی مختلف، اعضای غالب میکروفلور خاک به شمار می‌روند (Kubicek et al., 2003). آن‌ها به فراوانی در همه خاک‌های کشاورزی، جنگلی و سایر محیط‌های طبیعی

گلخانه شد. در یک مطالعه دیگر، خاصیت بیوکنترل جدایه‌های *Talaromyces flavus* علیه عامل پژمردگی ورتیسلیومی خیار در آزمایشگاه و گلخانه گزارش شد (Naraghi et al., 2010).

هدف از انجام این تحقیق، بررسی تأثیر سویه‌های بومی *Trichoderma* در مهار رشد میسلیمی قارچ *V. dahliae* در شرایط آزمایشگاهی، تکثیر و فرمولاسیون سویه منتخب تریکودرما و در نهایت ارزیابی کارایی فرمولاسیون‌ها و مقایسه روش‌های مختلف کاربرد آن‌ها در کنترل وقوع بیماری و ارتقای فاکتورهای رشدی خیار در شرایط گلخانه بود.

مواد و روش‌ها

تهیه سویه‌های قارچ بیمارگر و آنتاگونیست

سویه پُرآزار قارچ *V. dahliae* (کد VD-Co-S-G-22) از بخش تحقیقات بیماری‌های گیاهان، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور تهیه شد. در این پژوهش، از ۲۹ سویه منتخب از جنس قارچی *Trichoderma* موجود در مجموعه میکروارگانیسم‌های مفید بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، مورد استفاده قرار گرفت.

ارزیابی پتانسیل آنتاگونیستی سویه‌های *Trichoderma* در آزمایشگاه

برای ارزیابی توان آنتاگونیستی سویه‌های علیه قارچ بیمارگر، از روش کشت دوطرفه (dual culture) در محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار (potato dextrose agar=PDA, Merck, Germany) استفاده شد. ابتدا دیسک‌هایی به قطر پنج میلی‌متر از میسلیم‌های در حال رشد پرگنه قارچ بیمارگر و سویه‌های *Trichoderma* برداشته شد. هر دیسک به فاصله یک سانتی‌متر از لبه‌ی ظرف پتری ۲ سانتی‌متری حاوی محیط PDA قرار داده شد به گونه‌ای که دو دیسک مقابل هم و در یک خط مستقیم قرار داشته باشند. ظروف پتری به مدت ۵ روز در داخل انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس و در شرایط تاریکی قرار گرفتند. در ظروف شاهد، به جای سویه تریکودرما، دیسک محیط کشت PDA قرار داده شد. برای هر تیمار چهار تکرار در

(al., 2025). اگرچه، عوامل کنترل بیولوژیک متعدد قارچی (غالباً مربوط به گونه‌های مختلف *Trichoderma*، *Penicillium*، *Gliocladium*، *Talaromyces*؛ سویه‌های غیربیماریزای جنس‌های *Fusarium* و *Verticillium* و قارچ‌ریشه‌هایی از جنس‌های *Glomus*، *Funneliformis* و *Rhizophagus*) و باکتریایی (بیشتر از جنس‌های *Bacillus*، *Streptomyces* و *Pseudomonas*) کارایی بالایی در کنترل *V. dahliae* نشان داده‌اند اما قارچکشی‌های بیولوژیک تجاری موجود در بازار برای کنترل بیماری پژمردگی ورتیسلیومی بسیار محدود است (Deketelaere et al., 2017). بنابراین، تحقیقات در زمینه تولید، فرمولاسیون و کاربرد عوامل کنترل بیولوژیک مؤثر لازم و ضروری است. مطالعات متعددی کارایی سویه‌های مختلف تریکودرما را در کنترل پژمردگی ورتیسلیومی زیتون (Jimenez-Diaz et al., 2009; Carrero-Carron et al., 2016; Ruano-Rosa et al., 2016; Mulero-Aparicio et al., 2020; Reghmit et al., 2021; Carrasco et al., 2023; Abdenaceur et al., 2024)، بادمجان (Mokhtari et al., 2018; Bilginturan & Hatat Karaca, 2021; Jabnoun et al., 2023)، گوجه‌فرنگی (Tomah et al., 2009; Meddad-Hamza et al., 2014; Xiaojun et al., 2017)، سیب‌زمینی (Xiaojun et al., 2014)، پسته (Jamdar et al., 2013; Fotoohian et al., 2017)، پنبه (Hanson, 2000; Huang et al., 2006) و کلزا (Hafiz et al., 2022; Ausaf et al., 2025) نشان داده است. مطالعات کمی در دنیا و ایران در زمینه کنترل بیولوژیک پژمردگی ورتیسلیومی خیار، انجام شده است. Özgönen et al., 2010 گزارش کردند که *Trichoderma harzianum* باعث ممانعت از رشد میسلیمی *V. dahliae* در آزمون کشت متقابل در آزمایشگاه و کاهش شدت بیماری پژمردگی ورتیسلیومی خیار به مقدار ۶۷ درصد شد. Saberi et al., 2013 نشان دادند که متابولیت‌های فرار و غیرفرار سرکه چوب، اثرات ضدقارچی علیه *V. dahliae* داشته و باعث کاهش معنی‌دار رشد بیمارگر در آزمایشگاه شدند. همچنین، ترکیب سرکه چوب و ورمی‌کمپوست باعث کاهش شدت بیماری پژمردگی ورتیسلیومی خیار به اندازه ۷۶ درصد در

(Carboxymethylcellulose = CMC, BDH, England) و صمغ عربی (Acacia ash, Alfa Aesar, Germany) مخلوط شدند (Bora et al., 2010; Dubey et al., 2013). در نهایت، دو فرمولاسیون به صورت (۱) کنیدی‌های تریکودرما + خاک دیاتومه + کربوکسی متیل سلولز با کد HDC و (۲) کنیدی‌های تریکودرما + کائولین + صمغ عربی با کد HKG، تهیه و آماده شد. مقادیر تشکیل دهنده ۱۰۰ گرم از هر یک از فرمولاسیون‌ها به صورت یک گرم کنیدی، ۹۸ گرم ماده حامل و یک گرم چسباننده بود. زنده‌مانی یا عمر انبارداری فرمولاسیون‌ها (shelf life) در زمان‌های یک، سه و شش ماه پس از نگهداری در دو دمای اتاق (۲۵-۳۰) درجه سلسیوس و یخچال (۴-۶) درجه سلسیوس) به طور جداگانه تعیین شد. جمعیت سویه تریکودرما به عنوان عامل زنده فعال (active ingredient)، با روش سری رقت (serial dilution) در محیط کشت سیب زمینی دکستروز آگار (PDA) به صورت تعداد واحدهای پرگنه‌ساز در هر گرم فرمولاسیون (colony forming units=CFUs/g)، اندازه‌گیری و محاسبه شد. برای این منظور، یک گرم از فرمولاسیون به ۹ میلی‌لیتر آب مقطر سترون اضافه شد و پس از تهیه رقت‌های متوالی، ۲۵۰ میکرولیتر از هر رقت با سه تکرار با استفاده از میله‌ی شیشه‌ای L شکل روی محیط کشت پخش شد. ظروف پتری در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شده و بعد از سه روز نسبت به شمارش تعداد پرگنه‌های تریکودرما اقدام شد. علاوه بر این، میزان آلودگی‌های قارچی و باکتریایی احتمالی همراه در هر یک از فرمولاسیون‌ها نیز تعیین شد.

ارزیابی کارایی فرمولاسیون‌های منتخب در گلخانه

تهیه بستر کشت و مواد گیاهی: بستر مناسب کشت خیار با اختلاط پیت ماس، پرلیت، خاک رس و ماسه (۱:۲:۶) تهیه و دو بار (با فاصله دو روز) در دستگاه سترون‌سازی خاک، سترون شد. بذور خیار رقم سوپر سلطان در تمامی مطالعات گلخانه مورد استفاده قرار گرفت. بذور خیار رقم سوپر

نظر گرفته شد. رشد شعاعی میسلیم قارچ بیمارگر در تیمارها با خط‌کش، اندازه‌گیری و درصد ممانعت از رشد میسلیمی قارچ بیمارگر توسط سویه‌های تریکودرما، با استفاده از فرمول $GI = [(R_1 - R_2) / R_1] \times 100$ محاسبه شد که در آن، GI درصد ممانعت از رشد، R_1 شعاع پرگنه قارچ بیمارگر در شاهد و R_2 شعاع پرگنه قارچ بیمارگر در هر یک از تیمارها بود.

تکثیر سویه‌های مؤثر تریکودرما به روش فرمانتاسیون جامد

به منظور تکثیر سویه‌های منتخب تریکودرما و ارزیابی مقادیر رشد، کنیدی‌زایی و بقای آن‌ها، ابتدا بذور گندم به مدت یک شب در آب خیسانده شده و پس از آبگیری، ۵۰۰ گرم از این بستر آلی در کیسه‌های پلاستیکی از جنس پلی‌اتیلن قابل اتوکلاو قرار گرفته و طی سه روز متوالی داخل اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت نیم ساعت سترون شدند. پس از خنک شدن بسترها، تحت شرایط سترون داخل هود لامینار دیسک‌هایی از پرگنه در حال رشد سویه‌های تریکودرما منتخب به بسترهای سترون شده اضافه شد و سپس بسترهای کلونیزه شده به مدت یک ماه در دمای اتاق (۲۵-۳۰) درجه سلسیوس نگهداری شدند.

تهیه فرمولاسیون پودر و قابل و ارزیابی خصوصیات آن

بسترهای کلونیزه شده پس از طی فرآیند فرمانتاسیون جامد به سینی‌های سترون منتقل شده و برای خشک شدن، داخل دستگاه آون با دمای ۳۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. بسترهای کلونیزه شده پس از خشک شدن، با استفاده از دستگاه برداشت کنیدی‌های قارچ (Mycoharvester 5, Mycoharvester Company, UK)، کنیدی‌های تریکودرما از بسترهای آلی جدا شدند. کنیدی‌های استحصال شده از مایکوهاروستر، با مواد حامل/حجم دهنده (carrier/bulking agent) شامل پودر کائولین (ساخت شرکت کیمیا سبزآور، ایران) و خاک دیاتومه (Celite®, IMERYS, France)؛ و مواد چسباننده (sticker) شامل کربوکسی متیل سلولز

گیاه پژمرده و قسمت کمی از ساقه قهوه‌ای شده $3 = 50$ تا ۷۵ درصد از گیاه پژمرده و قهوه‌ای شدن پیشرفته ساقه، $4 = 75$ تا ۱۰۰ درصد گیاه پژمرده و قهوه‌ای شدن کامل ساقه و مرگ بوته می‌باشد (Wang et al., 2006). شاخص شدت بیماری (PDI=percent disease index) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Shanmugam & Kanoujia, 2011).

$$PDI = \left(\sum (\text{تعداد گیاهان ارزیابی شده} \times \text{شماره مقیاس}) \right) /$$

$$100 \times (\text{بالاترین مقیاس} \times \text{تعداد کل گیاهان})$$

ارزیابی پارامترهای رشد- ارتفاع بوته، طول ریشه، وزن تر بوته، وزن خشک بوته، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه و حجم ریشه در همه تیمارها، اندازه‌گیری و با شاهد مقایسه شدند. ارتفاع بوته و طول ریشه با استفاده از خط کش و وزن تر بوته، وزن خشک بوته، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه، با استفاده از ترازو با دقت 0.01 گرم اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری وزن خشک بوته و ریشه، مواد گیاهی به مدت سه روز در آون با دمای 80°C درجه سلسیوس قرار گرفتند. برای اندازه‌گیری حجم ریشه به میلی‌لیتر، اختلاف حجم آب در داخل استوانه مدرج، قبل و بعد از اضافه کردن ریشه، محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل‌های آماری: بررسی‌های آزمایشگاهی و گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی و به ترتیب با ۴ و ۵ تکرار انجام شد. برای نرمال کردن توزیع داده‌ها، از رابطه $(Y+0.5)^{1/2}$ استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌های آزمایش با نرم افزار SAS 9.3 انجام شد. در صورت معنی‌دار بودن اختلاف تیمارها، مقایسه و گروه‌بندی تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan's multiple range test) صورت گرفت.

نتایج

توان آنتاگونیستی سویه‌های تریکودرما علیه *V. dahliae* در آزمایشگاه

نتایج تجزیه واریانس صفت مقدار رشد میسلیمی قارچ *V. dahliae* نشان داد که اثر تیمار در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌های تیمارهای آزمایش هم نشان داد که مقادیر رشد میسلیمی در تیمارها با یکدیگر

سلطان در سینی نشاء کاشته شدند. برای تهیه نشاهای خیار و انتقال آن‌ها به گلدان‌ها، در هر حجره سینی کشت، یک عدد بذر پیش جوانه‌زده خیار کشت شد.

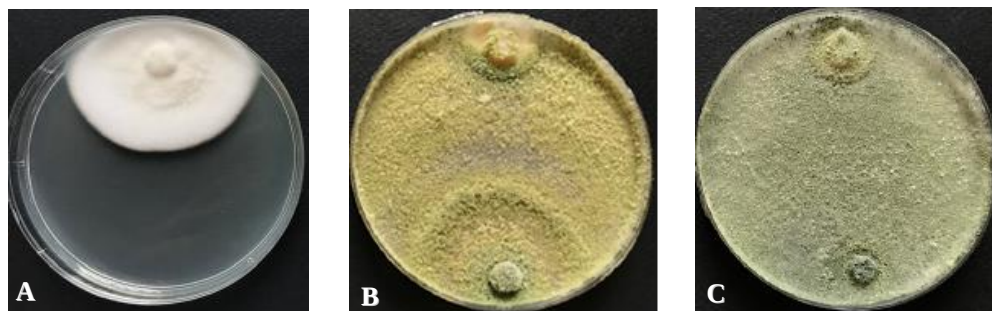
مایه‌زنی بیمارگر: جهت مایه‌زنی گلدان‌ها، سه دیسک به قطر یک سانتی‌متر از پرگنه *V. dahliae* در محیط کشت PDA حاوی میسلیم و ریزسختینه قارچ در داخل خاک و کنار ریشه نشاء قرار داده شد (Benhamou & Blanger, 1998; Xiaojun et al., 2014).

کاربرد فرمولاسیون‌ها: هر یک از دو فرمولاسیون تازه تهیه شده به سه روش تیمار بذر (seed treatment)، غوطه‌ور کردن یا فروبردن ریشه نشاءها در سوسپانسیون (root dip) و اضافه کردن به خاک (soil incorporation)، به کار رفته و مورد مطالعه قرار گرفتند. برای اعمال روش‌های تیمار بذر و فروبردن ریشه نشاءها در سوسپانسیون، ابتدا فرمولاسیون‌های پودری برای تهیه سوسپانسیون با آب مخلوط شده و سپس، بذور و یا ریشه نشاهای خیار به مدت یک ساعت در سوسپانسیون (با غلظت حداقل 1×10^{10} CFUs/g) قرار گرفتند. پس از آن، بذور و نشاهای تیمار شده در گلدان‌ها کاشته شدند. در روش اضافه کردن به خاک، هر فرمولاسیون به نسبت یک درصد با بستر کشت مخلوط شده و چهار روز بعد، بذور خیار در گلدان‌ها کشت شدند. گلدان‌هایی که فقط با قارچ بیمارگر مایه‌زنی شدند، به عنوان شاهد آلوده و گلدان‌هایی که هیچ کدام از قارچ بیمارگر و فرمولاسیون‌ها را دریافت نکردند به عنوان شاهد تیمار نشده در نظر گرفته شدند. گلدان‌ها در گلخانه با دمای $25-20^\circ\text{C}$ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی $60-50\%$ درصد، نگهداری شدند.

ارزیابی بیماری: بوته‌های خیار در گلخانه پس از مرحله ۲ برگی به طور روزانه بازدید و تا هشت هفته بعد از کاشت، بوته‌های آلوده (با درجات مختلفی از علائم پژمردگی، قهوه‌ای شدن ساقه و مرگ) مورد پایش قرار گرفتند. برای تعیین شدت بیماری (disease severity)، از یک مقیاس ۴-۰ استفاده شد که در آن: ۰ = گیاه سالم، ۱ = کمتر از ۲۵ درصد گیاه پژمرده و ساقه قهوه‌ای شده، ۲ = ۲۵ تا ۵۰ درصد

سویه های AS1-1، SS1-1، SS8-4، Ag-DG1، AS15-1، DS801، SRV110، SRV201 و T15 بیش از ۷۰ درصد، رشد میسلیومی *V. dahliae* را در آزمایشگاه مهار کردند و اختلاف معنی داری میان آن‌ها مشاهده نشد (جدول ۱). با توجه به این که سویه SRV200، از ریزوسفر خیار جدا شده بود، به عنوان سویه منتخب در مراحل بعدی این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت.

اختلاف معنی دار آماری دارند. در آزمون کشت متقابل، همه سویه های تریکودرما با بیش از ۵۰ درصد ممانعت از رشد میسلیومی، خاصیت آنتاگونیستی قابل توجهی علیه قارچ *V. dahliae* نشان دادند (جدول ۱). در این میان، دو سویه SRV200 و DS303 هر دو متعلق به گونه *T. harzianum* با ۷۷/۱ درصد بازدارندگی از رشد بیمارگر، مؤثرترین سویه های بیوکنترل بودند (شکل ۱). همچنین،



شکل ۱- آزمون کشت متقابل سویه های تریکودرما و قارچ بیمارگر در محیط سیب زمینی دکستروز آگار: (A) ظرف پتری حاوی *Verticillium dahliae* به تنهایی (شاهد)، (B) تقابل سویه SRV200 *T. harzianum* و *V. dahliae* (C) تقابل سویه *T. harzianum* DS303 و *V. dahliae*

Fig. 1. Dual culture test of *Trichoderma* strains and pathogen on potato dextrose agar medium: A) Petri plate containing *Verticillium dahliae* alone (control), B) *T. harzianum* SRV200 vs. *V. dahliae* and C) *T. harzianum* DS303 vs. *V. dahliae*

جدول ۱- اثر آنتاگونیستی سویه های تریکودرما در ممانعت از رشد میسلیومی قارچ *Verticillium dahliae* در آزمون کشت متقابل

Table 1. Antagonistic potential of *Trichoderma* strains in mycelial growth inhibition of *Verticillium dahliae* in dual culture test

Strain	Growth rate (mm)	Growth inhibition (%)	Strain	Growth rate (mm)	Growth inhibition (%)
Control	24.0 a	-	AD1-3	7.7 efg	67.9
SRV101	11.2 b	53.3	SRV106	7.7 fgh	67.9
AS16-1	11.0 bc	54.2	SRV202	7.7 efg	67.9
T15-7	10.5 bc	56.3	SS8-4	7.0 fgh	70.8
T15-10	10.5 bc	56.3	SRV110	7.0 fgh	70.8
SS10-2	9.7 bcd	59.6	T15	7.0 fgh	70.8
T15-9	9.7 bcd	59.6	AS1-1	6.7 fgh	72.1
SRV102	9.5 cde	60.4	SS1-1	6.7 fgh	72.1
AS14-1	9.2 cde	61.7	SRV201	6.7 fgh	72.1
SRV103	9.2 cde	61.7	Ag-DG1	6.5 gh	72.9
T14-10	9.2 cde	61.7	AS3-5	6.5 gh	72.9
T10-12	9.2 cde	61.7	AS15-1	6.2 gh	74.2
RP8-4	8.5 def	64.6	DS801	6.2 gh	74.2
SS10-4	8.5 def	64.6	DS303	5.5 h	77.1
AS12-2	8.0 def	66.7	SRV200	5.5 h	77.1

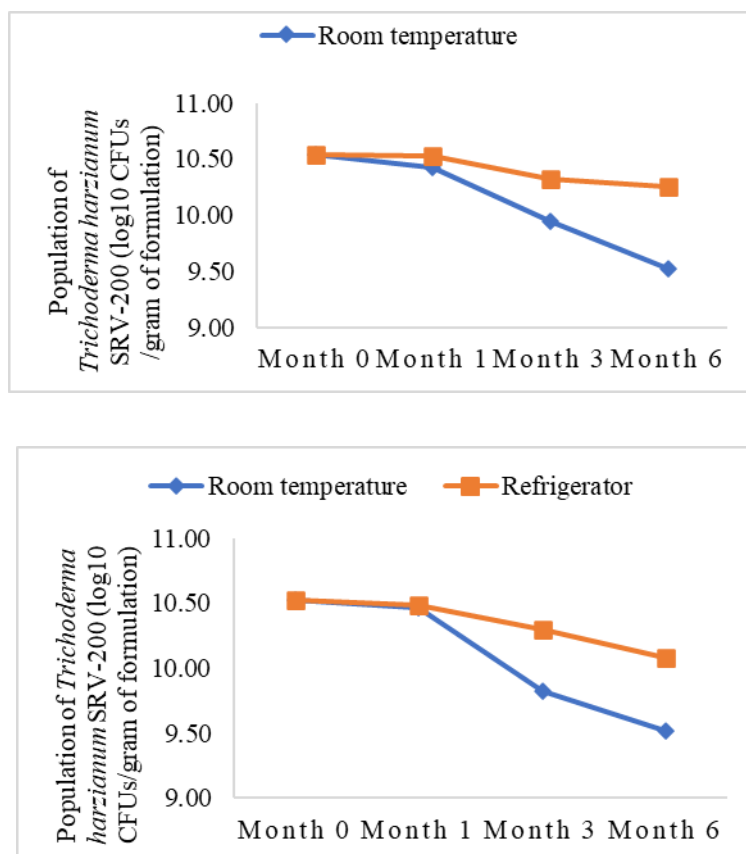
اعداد، میانگین چهار تکرار می باشند. میانگین های هر ستون که با حروف متفاوت نشان داده شده اند، بر اساس آزمون دانکن در سطح یک درصد با یکدیگر اختلاف معنی دار آماری دارند.

Values are the means of four replications. Values within a column followed by different letter(s) are statistically different according to Duncan's multiple range test ($p \leq 0.01$).

عمر انبارداری (زنده‌مانی) فرمولاسیون‌ها

جمعیت اولیه قارچ در زمان تهیه فرمولاسیون‌های HDC و HKG (زمان صفر)، به ترتیب $3/5 \times 10^{10}$ و $3/3 \times 10^{10}$ واحد پرگنه‌ساز در هر گرم (CFUs/g) بود. پس از یک ماه نگهداری فرمولاسیون‌ها در دمای اتاق، جمعیت قارچ کاهش اندکی داشت و به ترتیب به $2/7 \times 10^{10}$ و $2/9 \times 10^{10}$ CFUs/g رسید (شکل ۲). اما، پس از سه ماه، میزان افت جمعیت در هر دو فرمولاسیون قابل توجه بوده و به ترتیب برای HDC و HKG، 9×10^9 و $6/6 \times 10^9$ CFUs/g بود. شش ماه پس از نگهداری فرمولاسیون‌ها در دمای اتاق، کاهش جمعیت ادامه داشته و به اندازه یکسان $3/3 \times 10^9$ CFUs/g رسید (شکل ۲). یک ماه پس از نگهداری

فرمولاسیون‌ها در یخچال، جمعیت قارچ کاهش ناچیزی در هر دو فرمولاسیون HDC و HKG داشته و به ترتیب به $3/4 \times 10^{10}$ و 3×10^{10} CFUs/g رسید. روند نزولی جمعیت پس از سه و شش ماه نگهداری در دمای یخچال به مراتب کم‌تر از دمای اتاق بوده و برای فرمولاسیون HDC، 2×10^{10} و $1/1 \times 10^{10}$ و برای فرمولاسیون HKG، $1/8 \times 10^{10}$ و $1/2 \times 10^{10}$ CFUs/g تعیین شد (شکل ۲). لازم به ذکر است، هیچ‌گونه آلودگی همراه قارچی و باکتریایی در فرمولاسیون‌ها طی مدت نگهداری در دماهای مختلف، مشاهده نشد.



شکل ۲- زنده‌مانی *Trichoderma harzianum* SRV-200 بر اساس لگاریتم بر پایه ۱۰ واحدهای پرگنه‌ساز در هر گرم، در زمان‌های مختلف نگهداری فرمولاسیون‌ها (۱-۶ ماه) در دمای اتاق (۲۵-۳۰ درجه سلسیوس) و یخچال (۴-۶ درجه سلسیوس): (بالا) فرمولاسیون HDC (کنیدی‌های تریکودرما، خاک دیاتومه و کربوکسی متیل سلولوز) و (پایین) فرمولاسیون HKG (کنیدی‌های تریکودرما، کائولین و صمغ عربی)

Fig. 2. Viability of *Trichoderma harzianum* SRV-200 in terms of log10 CFUs/gram after different incubation times of formulations (1–6 months) at room temperature (25–30 °C) and in the refrigerator (4–6 °C) (Up HDC formulation (Trichoderma conidia + Diatomaceous earth + CMC) and (Down HKG formulation (Trichoderma conidia + Kaoline + Gum Arabic)

کارآیی فرمولاسیون‌ها در کنترل بیماری

بر اساس نتایج به دست آمده از آزمون گلخانه، همه تیمارهای حاوی تریکودرما بیماری پژمردگی ورتیسلیومی خیار را کنترل کردند (جدول ۲). در این میان، تیمار HDC-RD (فرمولاسیون شامل کنیدی‌های تریکودرما، خاک دیاتومه و کربوکسی متیل سلولز و روش غوطه‌ور کردن ریشه نشاها) با شاخص بیماری ۱۰ درصد، کمترین میزان شدت بیماری را نشان داد و به اندازه ۹۰ درصد بیماری را

کنترل کرد. پس از آن، تیمار HKG-RD (فرمولاسیون شامل کنیدی‌های تریکودرما، کائولن و صمغ عربی و روش غوطه‌ور کردن ریشه نشاها) قرار گرفت و با شاخص بیماری ۱۵ درصد، به میزان ۸۵ درصد بیماری را کنترل کرد. تیمارهای دیگر، با شاخص بیماری ۵۵-۲۰ درصد، منجر به کنترل ۴۵-۸۰ درصد بیماری در شرایط گلخانه شدند (جدول ۲).

جدول ۲- کارآیی فرمولاسیون‌های حاوی تریکودرما با روش‌های مختلف کاربرد، در کنترل بیماری پژمردگی ورتیسلیومی و تأثیر آن‌ها در افزایش پارامترهای رشدی خیار

Table 2. Efficacy of Trichoderma-base formulations with different delivery methods in controlling *Verticillium* wilt disease and their effect on growth promotion of cucumber

Treatments	Disease index (%)	Plant height (cm)	Shoot fresh weight (g)	Shoot dry weight (g)	Root fresh weight (g)	Root dry weight (g)	Root volume (cm ³)
HDC-ST	55	5.2 c	2.33 cd	0.31 cd	5.40 cd	0.94 bc	4.4 b
HDC-RD	10	21.0 a	5.36 ab	0.75 ab	15.34 a	2.32 a	13.2 a
HDC-SI	20	11.3 abc	3.94 bc	0.63 abc	9.90 abc	1.70 ab	8.0 ab
HKG-ST	45	9.2 bc	2.58 bcd	0.37 bcd	5.82 bcd	0.86 bc	5.8 b
HKG-RD	15	16.2 ab	5.02 abc	0.55 abc	14.03 a	2.48 a	13.2 a
HKG-SI	25	11.0 abc	4.35 bc	0.66 abc	9.49 abc	1.46 ab	8.2 ab
IC	100	3.2 c	0.60 d	0.07 d	1.68 d	0.28 c	2.2 b
Non-IC	0	21.8 a	8.54 a	0.90 a	12.18 ab	2.65 a	15.0 a

اعداد، میانگین چهار تکرار می‌باشند. میانگین‌های هر ستون که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، بر اساس آزمون دانکن در سطح یک درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار آماری دارند. همه فرمولاسیون‌ها حاوی یک درصد کنیدی‌های خالص *Trichoderma harzianum* به عنوان ماده فعال زنده می‌باشند. HDC: فرمولاسیون پودر شامل خاک دیاتومه و کربوکسی متیل سلولز؛ HKG: فرمولاسیون پودر شامل کائولین و صمغ عربی؛ ST: روش کاربرد به صورت تیمار بذر؛ RD: روش کاربرد به صورت غوطه‌ور کردن ریشه نشاها؛ SI: روش کاربرد به صورت افزودن به خاک؛ IC: شاهد آلوده؛ Non-IC: شاهد تلقیح نشده (سالم)

Values are the means of four replications. Values followed by the same letter are not statistically significant different ($p \leq 0.01$) according to Duncan's multiple range test. All bioformulation containing 1% *Trichoderma harzianum* conidia as active ingredient; HDC: powder formulation consists of diatomaceous earth and CMC; HKG: powder formulation consists of Kaoline and Gum Arabic; ST: delivered as seed treatment; RD: delivered as root dip; SI: delivered as soil incorporation; IC: Infected control; Non-IC: Non-inoculated control

کارآیی فرمولاسیون‌ها در کنترل بیماری

بر اساس نتایج به دست آمده از آزمون گلخانه، همه تیمارهای حاوی تریکودرما بیماری پژمردگی ورتیسلیومی خیار را کنترل کردند (جدول ۲). در این میان، تیمار HDC-RD (فرمولاسیون شامل کنیدی‌های تریکودرما، خاک دیاتومه و کربوکسی متیل سلولز و روش غوطه‌ور کردن

ریشه نشاها) با شاخص بیماری ۱۰ درصد، کمترین میزان شدت بیماری را نشان داد و به اندازه ۹۰ درصد بیماری را کنترل کرد. پس از آن، تیمار HKG-RD (فرمولاسیون شامل کنیدی‌های تریکودرما، کائولن و صمغ عربی و روش غوطه‌ور کردن ریشه نشاها) قرار گرفت و با شاخص بیماری ۱۵ درصد، به میزان ۸۵ درصد بیماری را کنترل کرد.

سویه SRV200 برای انجام مطالعات بعدی شامل تکثیر و فرمانتاسیون، فرمولاسیون و ارزیابی کارایی در گلخانه، انتخاب شد. مطالعات متعددی در دنیا و ایران نشان داده است که جدایه‌های تریکودرما با رشد و رقابت بالا و از طریق تولید متابولیت‌های فرار و غیرفرار در محیط‌های کشت در آزمایشگاه، علیه طیف وسیعی از بیمارگرهای گیاهی خواص آنتاگونیستی قوی داشته و پتانسیل کنترل بیولوژیک بالایی را از خود بروز می‌دهند. برای مثال، جدایه‌های *T. harzianum* به دست آمده از مزارع توت‌فرنگی در استونی، اثرات مهاری قوی بر رشد میسلومی *V. dahliae* داشته‌اند (Mirmajlessi et al., 2016). به‌طور مشابه، جدایه‌های تریکودرما از خاک مراکش، پتانسیل مؤثری در کاهش پژمردگی ورتیسلیومی روی ارقام بادمجان نشان داده‌اند (Mokhtari et al., 2018). سویه‌های تریکودرما جدا شده از باغ‌های زیتون در شمال غربی آرژانتین، نتایج امیدوارکننده‌ای در کنترل *V. dahliae* داشتند. به طوری که برخی از سویه‌ها مهار رشد بالا و قارچ‌کشی و همچنین تولید اسید ایندول استیک (IAA) را نشان دادند که به رشد و محافظت زیستی گیاه کمک می‌کند (Carrasco et al., 2024). علاوه بر این، مکانیسم‌های دخیل در تجزیه ریزسختی‌های *V. dahlia* توسط تریکودرما شامل بیان ژن‌های کدکننده آنزیم‌هایی مانند اندوکتیناز و گلوکاناز، برای درک بهتر چگونگی سرکوب عوامل بیماری‌زای گیاهی توسط این قارچ‌ها بررسی شده است (Tomah et al., 2023). علاوه بر این، *Trichoderma viride* فعالیت آنتاگونیستی بالایی را در برابر عوامل بیماری‌زای مختلف از جمله *V. dahliae* در فلفل نشان داده است (Karadzhova, 2024). در تحقیقی *Trichoderma koningii* با نرخ مهار میسلومی بالای ۹۰ درصد، اثربخشی بالایی را در مهار رشد میسلومی *Fusarium oxysporum*، یکی دیگر از بیمارگرهای مهم خیار، نشان داده است (Mitrood et al., 2022).

الگوی تغییرات جمعیت قارچ و عمر انبارداری و زنده‌مانی در هر دو فرمولاسیون طی شش ماه نگهداری در دو دمای اتاق و یخچال، کم و بیش مشابه هم بودند. در واقع، بعد از

تیمارهای دیگر، با شاخص بیماری ۵۵-۲۰ درصد، منجر به کنترل ۴۵-۸۰ درصد بیماری در شرایط گلخانه شدند (جدول ۲).

تأثیر فرمولاسیون‌ها روی پارامترهای رشد خیار

نتایج تجزیه واریانس شاخص‌های رشد شامل ارتفاع بوته، وزن تر و خشک بوته، حجم ریشه، طول ریشه و وزن تر و خشک ریشه، در گلخانه نشان داد که اثر تیمار روی همگی این صفات به جز طول ریشه، در سطح یک درصد معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن بود که تیمارها از نظر تأثیر روی همه شاخص‌های رشدی مذکور در سطح یک درصد با یکدیگر تفاوت معنی‌دار آماری داشتند (جدول ۲). تیمارهای HDC-RD (فرمولاسیون شامل کنیدی‌های تریکودرما، خاک دیاتومه و کربوکسی متیل سلولز و روش غوطه‌ور کردن ریشه نشاها) و HKG-RD (فرمولاسیون شامل کنیدی‌های تریکودرما، کائولن و صمغ عربی و روش غوطه‌ور کردن ریشه نشاها) در همه پارامترهای رشدی باعث افزایش معنی‌دار نسبت به شاهد آلوده شدند و با شاهد سالم اختلاف معنی‌دار آماری نداشتند (جدول ۲).

بحث

هر ۲۹ سویه تریکودرمای مورد مطالعه در آزمون کشت متقابل در آزمایشگاه، باعث کاهش قابل توجه رشد میسلومی قارچ *V. dahliae* شدند. به طوری که، همه سویه‌ها بالای ۵۰ درصد و ۱۲ سویه بالای ۷۰ درصد از رشد قارچ بیمارگر ممانعت به عمل آوردند. در این میان، دو سویه SRV200 و DS303، هر دو متعلق به گونه *T. harzianum* با بازدارندگی بالای ۷۷ درصد، مؤثرترین سویه‌های تریکودرما در این آزمایش بودند. از آنجایی که سویه‌های تریکودرمای مورد بررسی از مجموعه میکروارگانیزم‌های مفید نگهداری شده بوده و اغلب دارای پتانسیل بیوکنترل قوی علیه سایر بیمارگرهای گیاهی هستند، این نتایج دور از انتظار نبود. سویه DS303 از خاک مزرعه سویا و سویه SRV200 از ریزوسفر خیار جدا شده بود. لذا،

یک ماه، اُفت جمعیت قارچ در هر دو دما، ناچیز بود اما پس از سه ماه نگهداری، کاهش جمعیت قابل ملاحظه‌ای مشاهده شد. این کاهش جمعیت در دمای اتاق با شیب تندتری همراه بود. به همین ترتیب، روند نزولی جمعیت پس از شش ماه، در هر دو دما ادامه داشته که البته در دمای یخچال، این روند با شیب ملایم‌تری رخ داد. به‌رغم کاهش تدریجی جمعیت زنده قارچ در هر دو بستر، جمعیت نهایی پس از شش ماه، حتی در دمای اتاق، بالا و قابل قبول بود. این نتایج، کم و بیش با نتایج سایر تحقیقات مشابه، منطبق بود. برای مثال، Naeimi et al., 2020 فرمانتاسیون جامد سویه‌ای از قارچ *T. harzianum* و میزان کلونیزاسیون، کینیدی‌زایی و بقای سویه قارچی را در ۱۳ بستر آلی ارزان قیمت و قابل دسترس مورد بررسی قرار دادند. بیش‌ترین جمعیت قارچ در بذور سورگوم جارویی و کاه و کلش برنج به ترتیب به مقدار $6/4 \times 10^{10}$ و $5/3 \times 10^{10}$ واحد پرگنه‌ساز در هر گرم (CFUs/g) وجود داشت. جمعیت قارچ در همه بسترها پس از نگهداری به مدت یک سال در دمای اتاق با الگوهای مختلف کاهش پیدا کرد. اما این افت جمعیت در بذور سورگوم جارویی، کاه و کلش برنج و پوسته شلتوک در مقایسه با بقیه بسترها کم‌تر بوده و در نهایت از جمعیت قابل توجهی برخوردار بودند. در همین مدت، جمعیت قارچ در همه بسترهای نگهداری شده در یخچال با یک شیب ملایم کاهش نشان داد و جمعیت نهایی در همه بسترها بالاتر از معادل آن‌ها در دمای اتاق بود.

همه تیمارهای حاوی تریکودرما که با فرمولاسیون‌های و روش‌های کاربرد مختلف، برای کنترل بیماری پژمردگی ورتیسلیومی خیار در گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفتند با درجات مختلف منجر به کنترل مطلوب بیماری شدند. حداقل میزان کنترل بیماری ۴۵ درصد بود (تیمار HDC-ST شامل کینیدی‌های تریکودرما، خاک دیاتومه و کربوکسی متیل سلولز و روش تیمار بذری که برای یک عامل کنترل بیولوژیک، قابل قبول است. از طرف دیگر، سایر تیمارهای حاوی قارچ عامل بیوکنترل، با درجات به مراتب بالاتری بیماری را کنترل کردند. به طوری که، سه تیمار HDC-RD ، HKG-RD و HDC-SI، با ۹۰-۸۰ درصد کنترل بیماری،

کارآیی بسیار بالا و قابل توجهی را به نمایش گذاشتند. در خصوص نقش و اثر محتوای فرمولاسیون و روش کاربرد در میزان کارآیی تیمارها، می‌توان بر اساس نتایج به دست آمده، ابراز کرد که اگرچه فرمولاسیون‌های حاوی خاک دیاتومه و کربوکسی متیل سلولز باعث کاهش بیشتر شدت بیماری شدند اما روش کاربرد فرمولاسیون‌ها تفاوت‌های بیشتری را در میزان کنترل بیماری ایجاد کرد. در واقع، فارغ از محتوای فرمولاسیون، روش غوطه‌ور کردن ریشه نشاها در سوسپانسیون تهیه شده از فرمولاسیون‌ها بیشترین کارآیی را در کنترل بیماری پژمردگی ورتیسلیومی خیار نشان داد (۸۵ و ۹۰ درصد). پس از آن روش اضافه کردن فرمولاسیون به خاک، منجر به بیشترین کاهش شدت بیماری شد (۷۵ و ۸۰ درصد کنترل بیماری) و کمترین کارآیی مربوط به روش تیمار بذر بود (کنترل بیماری به میزان ۴۵ و ۵۵ درصد).

نکته حائز اهمیت این که، کاربرد فرمولاسیون‌های حاوی تریکودرما علاوه بر کنترل بیماری، باعث بهبود شاخص‌های رشدی در حضور قارچ بیمارگر شدند. این موضوع به ویژه در تیمارهای HDC-RD (فرمولاسیون شامل کینیدی‌های تریکودرما، خاک دیاتومه و کربوکسی متیل سلولز و روش غوطه‌ور کردن ریشه نشاها) و HKG-RD (فرمولاسیون شامل کینیدی‌های تریکودرما، کائولن و صمغ عربی و روش غوطه‌ور کردن ریشه نشاها) بسیار قابل توجه است زیرا باعث افزایش چشمگیر همه پارامترهای رشدی خیار و چندبرابر شدن شاخص‌ها نسبت به شاهد آلوده شدند. این افزایش به ویژه برای وزن تر و خشک ریشه و بوته، بیشتر مشهود بود. سویه‌ای از قارچ *T. koningii* حجم ریشه، وزن تر و خشک خیار را به طور قابل توجهی در گلخانه افزایش داده است (Mtrood et al., 2022). به طور مشابه، جدایه HZA14 *Trichoderma virens* در تجزیه میکرواسکروت‌های *V. dahliae* مؤثر بوده است که علاوه بر کاهش شدت بیماری موجب افزایش رشد گیاه بادمجان شد (Tomah et al., 2023). تلقیح ریشه با جدایه‌های تریکودرما از طریق مکانیسم‌هایی مانند بهبود جذب مواد مغذی، تعدیل هورمون‌ها (مانند اکسین‌ها و سیتوکینین‌ها) و القای مقاومت سیستمیک، باعث افزایش رشد گیاهان می‌شود (Jaroszuk

کاربرد مطلوب، می تواند به طور مؤثری موجب مهار قارچ بیماری زای *V. dahliae* و بهبود شاخص های رشد گیاه خیار در گلخانه شود. این نتایج نه تنها بر کاربرد یک قارچ بیوکنترل به عنوان یک گزینه جایگزین مؤثر و بی خطر برای قارچکش های شیمیایی برای مدیریت بیماری در گلخانه تأیید می کند، بلکه بر اهمیت نوع و ترکیب فرمولاسیون و روش کاربرد آن در افزایش کارایی قارچکش های بیولوژیک میکروبی نیز تأکید دارد. در مجموع، بهره گیری از این فرمولاسیون، می تواند به عنوان یک راهکار مؤثر، ایمن و پایدار در راستای کاهش مصرف آفتکش های شیمیایی و توسعه کشاورزی پایدار و تحقق امنیت غذایی مورد توجه قرار گیرد.

با عنایت به این که قارچ *V. dahliae* پلی فاژ بوده و باعث ایجاد بیماری پژمردگی در سایر میزبان های گیاهی مهم مانند زیتون، پسته و پنبه و سیب زمینی می شود، مطالعه به منظور توسعه کاربرد فرمولاسیون های حاوی تریکودرما با هدف کنترل مؤثر پژمردگی ورتیسلیومی در سایر گیاهان مهم زراعی و باغی کشور پیشنهاد می شود.

سپاسگزاری

نگارندگان از مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور به دلیل فراهم کردن امکانات و زیرساخت های این پژوهش تشکر و قدردانی به عمل می آورند.

(Sciset et al., 2019; Iula et al., 2021) یافته های این تحقیق با مطالعات قبلی که افزایش شاخص های رشد سبزیجات مختلف پس از کاربرد *T. harzianum* گزارش کرده اند، مطابقت دارد (Mwangi et al., 2011; Nzanza, 2012; Wang et al., 2025; Abbod et al., 2025) در مجموع، به رغم معنی دار نبودن اختلافات آماری بین دو تیمار مذکور، میزان افزایش شاخص های رشدی در تیمار HDC-RD بیشتر بود که گویای میزان تأثیر و اهمیت ترکیبات همراه و افزودنی در فرمولاسیون آفتکش های بیولوژیک شامل مواد حامل یا پرکننده و چسباننده (در این جا: خاک دیاتومه و کربوکی متیل سلولز) در کارایی بیولوژیک می باشد.

با بررسی روش های مختلف کاربرد مورد مطالعه در این پژوهش، می توان گفت هم درخصوص کنترل بیماری و هم افزایش پارامترهای رشد خیار، غوطه ور کردن ریشه نشاها در سوسپانسیون قارچ، مؤثرترین شیوه انتقال بود که نشان دهنده اهمیت روش کاربرد آفتکش های بیولوژیک در میزان کارایی آن ها در محیط های طبیعی می باشد. Vermelho et al. (2024) نیز اظهار داشتند که انتخاب بهترین روش کاربرد عامل کنترل بیولوژیک، برای افزایش اثربخشی و کارایی آن بر روی بیمارگر هدف، بسیار ضروری و حیاتی است.

نتیجه گیری کلی

یافته های این پژوهش نشان داد که استفاده از سویه های مؤثر تریکودرما، به کارگیری فرمولاسیون های مناسب و روش

References

- Abbod, M., Alkhouri, I. & Shahoud, R. 2025. Investigating the effects of *Trichoderma harzianum* and plant compost on maize growth and Fusarium root rot management under greenhouse conditions. DYSONA–Applied Science, 6: 30–39.
- Abdenaceur, R., Farida, B. & Fatma, S. 2024. Volatile organic compounds activities of *Trichoderma* species isolated from olive grove soil against the wilt pathogen, *Verticillium dahliae*. European Journal of Plant Pathology, <https://doi.org/10.1007/s10658-024-02839-8>
- Adekunle, A.T., Cardwell, K.F., Florini, D.A. & Ikotun, T. 2001. Seed treatment with *Trichoderma* species for control of damping-off of cowpea caused by *Macrophomina phaseolina*. Biocontrol Science and Technology, 11: 449–457.
- Ausaf, N., Saleem, H., Nawab, R., Kamal, A., Ahmad, H.A., Ghufuran, J., Riaz, M.S., Ullah, I., Chaudhary, H.J. & Munis, M.F.H. 2025. Comparative efficacy of *Trichoderma harzianum* and *Pseudomonas putida* in mitigating Verticillium wilt of *Brassica napus*. Journal of Phytopathology, 173: e70045

- Benhamou, N. & Blanger, R.R. 1998. Benzothiadiazole-Mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato. *Plant Physiology*, 118: 1203–1212.
- Bilginturan, M. & Hatat Karaca, G. 2021. Effects of *Trichoderma* and PGPR applications on growth and *Verticillium* wilt of eggplant. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 34(3): 267–272.
- Bora, J., Das, B.C., Borkakoty, K. & Dutta, P.K. 2010. Studies on the growth and multiplication of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* on different compost manures and their population dynamics *in vitro* and *in vivo* conditions. *Journal of Biological Control*, 24: 253–256.
- Carrasco, F., Miranda, V., Sede, S.M., Bustos, S., Gonzalez, V., Otero, L. & Fracchia, S. 2023. Screening for native *Trichoderma* strains as potential biocontrollers of the olive pathogen *Verticillium dahliae*. *Arid Land Research and Management*, <https://doi.org/10.1080/15324982.2023.2233933>
- Carrasco, F., Miranda, V., Sede, S.M., Bustos, S., González, V., Otero, L. & Fracchia, S. 2024. Screening for native *Trichoderma* strains as potential biocontrollers of the olive pathogen *Verticillium dahliae*. *Arid Land Research and Management*, 38(1): 122–143.
- Carrero-Carrón, I., Rubio, M.B. & Niño-Sánchez, J. 2018. Interactions between *Trichoderma harzianum* and defoliating *Verticillium dahliae* in resistant and susceptible wild olive clones. *Plant Pathology*, 67(8): 1758–1767.
- Carrero-Carrón, I., Trapero-Casas, J.L., Olivares-García, C., Monte, E., Hermosa, R. & Jiménez-Díaz, R.M. 2016. *Trichoderma asperellum* is effective for biocontrol of *Verticillium* wilt in olive caused by the defoliating pathotype of *Verticillium dahliae*. *Crop Protection*, 88: 45–52.
- Carroll, C.L., Carter, C.A., Goodhue, R.E., Lawell, C.L. & Subbarao, K.V. 2018. A review of control options and externalities for *Verticillium* wilts. *Phytopathology*, 108: 160–171.
- Contreras-Soto, M.B., Tovar-Pedraza, J.M., Solano-Báez, A.R., Bayardo-Rosales, H. & Márquez-Licona, G. 2025. Biocontrol Strategies Against Plant-Parasitic Nematodes Using *Trichoderma* spp.: Mechanisms, Applications, and Management Perspectives. *Journal of Fungi*, 11(7): 517.
- Deketelaere, S., Tyvaert, L., França, S.C. & Höfte, M. 2017. Desirable traits of a good biocontrol agent against *Verticillium* wilt. *Frontiers in Microbiology*, 8: 1186.
- Druzhinina, I.S., Kopchinskiy, A.G., Komon, M., Bissett, J., Szakacs, G. & Kubicek, C.P. 2005. An oligonucleotide barcode for species identification in *Trichoderma* and *Hypocrea*. *Fungal Genetics and Biology*: FG & B 42(10): 813–28.
- Dubey S.C., Tripathi, A. & Singh, B. 2013. Integrated management of *Fusarium* wilt by combined soil application and seed dressing formulations of *Trichoderma* species to increase grain yield of chickpea. *International Journal of Pest Management*, 59(1): 47–54.
- Fotoohiyan, Z., Rezaee, S., Bonjar, G.H., Mohammadi, A.H. & Moradi, M. 2017. Biocontrol potential of *Trichoderma harzianum* in controlling wilt disease of pistachio caused by *Verticillium dahliae*. *Journal of Plant Protection Research*, 57: 185–193.
- Hafiz, F.B., Moradtalab, N., Goertz, S., Rietz, S., Dietel, K., Rozhon Rozhon, W., Humbeck, K., Geistlinger, J., Neumann, G. & Schellenberg, I. 2022. Synergistic effects of a root-endophytic *Trichoderma* fungus and *Bacillus* on early root colonization and defence activation against *Verticillium longisporum* in rapeseed. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 35(5): 380–392.
- Harman, G.E. & Kubicek, C.P. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium*. *Enzymes, Biological Control and Commercial Applications*, vol. II. Taylor & Francis, London, United Kingdom.
- Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I. & Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Review Microbiology*, 2: 43–56.
- Iula, G., Miras-Moreno, B., Lucini, L. & Trevisan, M. 2021. The mycorrhiza-and *Trichoderma*-mediated elicitation of secondary metabolism and modulation of phytohormone profile in tomato plants. *Horticulturae*, 7: 394.
- Jabnoun-Khiareddine, H., Daami-Remadi, M., Ayed, F. & El Mahjoub, M. 2009. Biological control of tomato *Verticillium* wilt by using indigenous *Trichoderma* spp. *African Journal of Plant Science and Biotechnology*, 3: 26–36.
- Jamdar, Z., Mohammadi, A.H. & Mohammadi, S. 2013. Study of antagonistic effects of *Trichoderma* species on growth of *Verticillium dahliae*, the causal agent of *Verticillium* wilt of pistachio under laboratory condition. *Journal of Nuts*, 4(4): 53–56.
- Jaroszuk-Ściśel, J., Tyśkiewicz, R., Nowak, A., Ozimek, E., Majewska, M., Hanaka, A., Tyśkiewicz, K., Pawlik, A. & Janusz, G. 2019. Phytohormones (auxin, gibberellin) and ACC deaminase *in vitro* synthesized by the mycoparasitic *Trichoderma* DEMTkZ3A0 strain and changes in the level of auxin and plant resistance markers in wheat seedlings inoculated with this strain conidia. *International Journal of Molecular Sciences*, 20: 4923.
- Jimenez-Díaz, R.M., Trapero-Casas, J.L., Boned, J., Landa, B.B. & Navas-Cortes, J.A. 2009. Uso de Bioten para la protección biológica de plantones de olivo contra la Verticilosis causada por el patotipo defoliante de *Verticillium dahliae*. *Boletín Sanidad Vegetal de Plagas*, 35: 595–615.

- Karadzova, N. 2024. In vitro study of *Trichoderma* isolates–potential antagonists of *Sclerotinia sclerotiorum* and other soil pathogens causing root and stem rots on pepper (*Capsicum annuum* L.). *Agricultural Sciences/Agrarni Nauki*, 16(40).
- Khan, J., Ooka, J.J., Miller, S.A., Madden, L.V. & Hoitink, H.A.J. 2004. Systemic resistance induced by *Trichoderma hamatum* 382 in cucumber against phytophthora Crown rot and leaf blight. *Plant Disease*, 88: 280–286.
- Kong W.L., Ni H., Wang, W.Y. & Wu, X.Q. 2022. Antifungal effects of volatile organic compounds produced by *Trichoderma koningiopsis* T2 against *Verticillium dahliae*. *Frontiers in Microbiology*, 13: 1013468
- Kowalska, B. 2021. Management of the soil–borne fungal pathogen–*Verticillium dahliae* Kleb. causing vascular wilt diseases. *Journal of Plant Pathology*, 103: 1185–1194.
- Kubicek, C.P., Bissett, J., Druzhinina, I., Kullnig–Gradingner, C.M. & Szakacs, G. 2003. Genetic and metabolic diversity of *Trichoderma*: a case study on South East Asian isolates. *Fungal Genetics and Biology*, 38: 310–319.
- Martinez, Y., Ribera, J., Schwarze, F.W.M.R. & De France, K. 2023. Biotechnological development of *Trichoderma*–based formulations for biological control. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 107: 5595–5612.
- McGrath, T. 2001. Phytophthora Blight of Cucurbits. Department of Plant Pathology, Long Island Horticultural Research and Extension Center. <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2005-0429-01>
- Meddad–Hamza, A., Benzina, F., Meddad, C., Hamza, N., Reghmit, A., Ziane, H. & Ksentini, H. 2023. Biological control of arbuscular mycorrhizal fungi and *Trichoderma harzianum* against *Fusarium oxysporum* and *Verticillium dahliae* induced wilt in tomato plants. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 33: 91.
- Mirmajlessi, S.M., Mänd, M., Najdabbasi, N., Larena, I. & Loit, E. 2016. Screening of native *Trichoderma harzianum* isolates for their ability to control *Verticillium* wilt of strawberry. *Zemdirbyste*, 103: 397–404.
- Mokhtari, W.M., Achouri, M., Remah, A. & Boubaker, H. 2018. *Verticillium dahliae*–eggplant as the pathosystem model to reveal biocontrol potential of three *Trichoderma* spp. in greenhouse conditions. *Atlas Journal of Biology*, 417–421.
- Mulero–Aparicio, A., Varo, A., Agustí–Brisach, C., Lopez–Escudero, F.J. & Trapero, A. 2020. Biological control of *Verticillium* wilt of olive in the field. *Crop Protection*, 128: 104993.
- Mwangi, M.W., Monda, E.O., Okoth, S.A. & Jefwa, J.M. 2011. Inoculation of tomato seedlings with *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizal fungi and their effect on growth and control of wilt in tomato seedlings. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42: 508–513.
- Naeimi, S., Khosravi, V., Varga, A., Vágvölgyi, C. & Kredics, L. 2020. Screening of organic substrates for solid–state fermentation, viability and bioefficacy of *Trichoderma harzianum* AS12–2, a biocontrol strain against rice sheath blight disease. *Agronomy*, 10(9): 1258.
- Naraghi, L., Heydari, A., Rezaee, S., Razavi, M. & Afshari–Azad, H. 2010. Biological control of *Verticillium* wilt of greenhouse cucumber by *Talaromyces flavus*. *Phytopathologia Mediterranea*, 49: 321–329.
- Nzanza, B. 2012. Seedling quality, plant growth and fruit yield and quality of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in response to *Trichoderma harzianum* and arbuscular mycorrhizal fungi. University of Pretoria.
- Özgönen, H., Candan, M. & Arici, S.E. 2010. The Effects of Mycorrhizal Fungi and *Trichoderma harzianum* on *Verticillium dahliae* in Cucumber. 2nd International Symposium on Sustainable Development, Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, 451–455.
- Papavizas, G.C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. *Annual Review of Phytopathology*, 23: 23–54.
- Prasetyawan, S. & Sulistyowati, L. 2018, January. Glucanase and Chitinase from some isolates of endophytic fungus *Trichoderma* spp. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering (Vol. 299, p. 012026). IOP Publishing.
- Rahman, A.U. 2023. The Role of Soil– Borne Fungi in Potato Early Dying Disease: A Study of *Verticillium dahliae*, *V. albo–atrum*, and *Colletotrichum coccodes* in Alberta (Master's thesis, University of Lethbridge (Canada)), 173 pages.
- Reghmit, A., Benzina–tihar, F., López Escudero, F. J., Halouane Sahir, F., Oukali, Z., Bensmail, S., & Ghazali, N. 2021. *Trichoderma* spp. isolates from the rhizosphere of healthy olive trees in northern Algeria and their biocontrol potentials against the olive wilt pathogen, *Verticillium Dahliae*. *Organic Agriculture*, 11: 639–657.
- Rodrigues, A.O., May De Mio, L.L. & Soccol, C.R. 2023. *Trichoderma* as a powerful fungal disease control agent for a more sustainable and healthy agriculture: recent studies and molecular insights. *Planta*, 257: 3.
- Ruano–Rosa D., Prieto P. & Rincon A.M. 2016. Fate of *Trichoderma harzianum* in the olive rhizosphere: time course of the root colonization process and interaction with the fungal pathogen *Verticillium dahliae*. *BioControl*, 61: 269–82.

- Saberi, M., Sarpeleh, A., Askary, H. & Rafiei, F. 2013. Effects of wood vinegar and vermicompost combination in the control of *Verticillium dahliae* the causal agent of verticillium wilt of greenhouse cucumber. *Applied Entomology and Phytopathology*, 81: 51–60.
- Shanmugam, V. & Kanoujia, N. 2011. Biological management of vascular wilt of tomato caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycospersici* by plant growth-promoting rhizobacterial mixture. *Biological Control*, 57: 58–93.
- Spadaro, D. & Gullino, M.L. 2005. Improving the efficacy of biocontrol agents against soilborne pathogens. *Crop Protection*, 24: 601–613.
- Sun, W., Shahrajabian, M.H. & Guan, L. 2025. The Biocontrol and Growth-Promoting Potential of *Penicillium* spp. and *Trichoderma* spp. in Sustainable Agriculture. *Plants*, 14: 2007.
- Susanna, S., Sayuthi, M. & Salsabila, L. 2024. Test antagonism of several *Trichoderma* species in suppressing the growth of *Alternaria* sp. in vitro. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 1297, No. 1, p. 012066). IOP Publishing.
- Thangavelu, R., Palaniswami, A. & Velazhahan, R. 2004. Mass production of *Trichoderma harzianum* for managing *Fusarium* wilt of banana. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 103: 259–263.
- Tomah, A.A., Alamer, I.S.A., Khattak, A.A., Ahmed, T., Hatamleh, A.A., Al-Dosary, M.A., Ali, H.M., Wang, D., Zhang, J., Xu, L. & Li, B. 2023. Potential of *Trichoderma virens* HZA14 in controlling Verticillium Wilt disease of eggplant and analysis of its genes responsible for microsclerotial degradation. *Plants*, 12(21): 3761.
- Verma, M., Brar, S.K., Tyagi, R.D., Surampalli, R.Y. & Valero, J.R. 2007. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal*, 37: 1–20.
- Vermelho, A.B., Moreira, J.V., Akamine, I.T., Cardoso, V.S. & Mansoldo, F.R.P. 2024. Agricultural pest management: The role of microorganisms in biopesticides and soil bioremediation. *Plants*, 13: 2762.
- Wang, N., Xu, Q., Qin, C., Geng, L., Yan, Z., Li, H., Ahammed, G.J. & Chen, S. 2025. Synergistic Effects of *Trichoderma harzianum* and light quality on photosynthetic carbon metabolism and growth in tomato plants. *Agronomy*, 15: 1362.
- Wang, R.H., Zhou, B.L., Zhang, Q.F., Lian, H. & Fu, Y.W. 2006. Effects of vanillin and cinnamic acid in root exudates of eggplants on *Verticillium dahliae*. *Acta Ecologica Sinica*, 26: 3152–3155.
- Woo, S.L., Hermosa, R., Lorito, M. & Monte, E. 2022. *Trichoderma*: a multipurpose, plant-beneficial microorganism for eco-sustainable agriculture. *Nature Reviews Microbiology*, <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00819-5>
- Xiaojun, C., Wongkaew, S., Jie, Y., Xuehui, Y., Haiyong, H., Shiping, W., Qigun, T., Lishuang, W., Athinuwat, D. & Buensanteai, N. 2014. In vitro inhibition of pathogenic *Verticillium dahliae*, causal agent of potato wilt disease in China by *Trichoderma* isolates. *African Journal of Biotechnology*, 13: 3402–3412.
- Zhu, Y., Zhao, M., Li, T., Wang, L., Liao, C., Liu, D., Zhang, H., Zhao, Y., Liu, L., Ge, X. & Li, B. 2023. Interactions between *Verticillium dahliae* and cotton: pathogenic mechanism and cotton resistance mechanism to Verticillium wilt. *Frontiers in Plant Science*, 14:1174281.

Evaluation of formulations containing *Trichoderma harzianum* in biocontrol of *Verticillium dahliae* Kleb. and their effects on growth parameters of cucumber

Saba Sohanger¹, Shahram Naeimi², Hamidreza Zamanizadeh³, Saeed Rezaee⁴

1., 3., 4. Ph.D. Student, Professor, Assistant Professor, Department of Plant Protection, College of Agriculture Sciences and Food Industries, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2. Associate Professor, Department of Biological Control Research, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

Corresponding author: Shahram Naeimi, email: sh.naeimi@areeo.ac.ir

Received: Dec., 15, 2025

12(2) 49–64

Accepted: Jan., 27, 2026

Abstract

Cucumber is the most important greenhouse crop in Iran. *Verticillium dahlia* is a very dangerous pathogen of many plants including greenhouse-grown cucumber which causes considerable losses in agricultural crops. Biological control is a safe and suitable method for management of the disease alongside with reducing chemical fungicides especially in greenhouses. The aim of the current study was fermentation and formulation of the selected biocontrol strain of *Trichoderma* and evaluation of the bio-efficacy of formulations in greenhouse. The antagonistic potential of 29 *Trichoderma* strains was studied against the fungal pathogen using dual culture method. Then, solid-state fermentation of the selected *Trichoderma* strain was performed on wheat seeds for one month at room temperature. After drying the colonized substrate in the oven, *Trichoderma* conidia were harvested using a mycoharvester device. Conidia were mixed with carriers (kaolin and diatomaceous earth) and stickers (Carboxymethylcellulose and gum Arabic). Shelf life of the formulations was assessed up to six months at room temperature as well as refrigerator. Efficacy of formulations with three delivery methods (seed treatment, root dip and soil incorporation) were evaluated in controlling *Verticillium* wilt disease and promoting growth parameters of cucumber in compare to infected and uninfected controls. The results showed that all *Trichoderma* strains presented considerable antagonistic potential against *V. dahliae* with more than 50% inhibition of mycelial growth of pathogen in dual culture test. Among them, SRV200 and DS303 strains (both belonged to *T. harzianum*) with 77.1% growth inhibition were the most effective strains. The shelf life of formulations was declined after six months at both temperatures and the decrease in fungal population was lower at refrigerator. Nevertheless, the final population was considerably high at room temperature and refrigerator (10^9 and 10^{10} CFUs/g, respectively). All *Trichoderma*-based formulations, controlled *Verticillium* wilt of cucumber with more than 45% efficacy. Among them, HDC-RD (Harvested spores + Diatomaceous earth + CMC-Root Dip) with disease index of 10%, showed lowest disease severity and controlled the disease by 90%. Furthermore, HDC-RD and HKG-RD (Harvested spores + Kaoline + Gum Arabic-Root Dip) treatments caused significant increase in all growth parameters (except root length) compared to infected control and had no significant difference with uninfected control. Results of this study confirmed that application of bioformulations containing *Trichoderma* have high potential in effectively control *Verticillium* wilt and promoting cucumber growth and could be used as reliable alternative for chemical fungicides in concordance with sustainable agriculture, consumers health and food security.

Keywords: Fermentation, Biological control, Antagonist, Delivery methods, Growth promotion, Greenhouse