

تأثیر پرایمینگ بذور عدس به‌صورت آبی، زیستی و با مواد القا کننده مقاومت در مدیریت بیماری پژمردگی فوزاریومی در شرایط آزمایشگاهی، گلخانه‌ای و مزرعه‌ای

علی ویانی^۱✉، حمیدرضا پورعلی‌بابا^۲، صنم ابوالفتح‌زاده^۱

^۱گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. ^۲آموسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مراغه، ایران. ✉ viani@tabrizu.ac.ir

پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۵

بازنگری: ۹۹/۱۲/۲۹

دریافت: ۹۹/۱۱/۱۰

چکیده

پژمردگی فوزاریومی ناشی از قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* از مهم‌ترین بیماری‌های عدس در مناطق دیم کشور می‌باشد. در این بررسی، تأثیر پرایمینگ بذور عدس با غلظت‌های مختلف مواد القاکننده مقاومت، پرایمینگ زیستی (با باکتری آنتاگونیست *Bacillus methylotrophicus*)، پرایمینگ آبی و استفاده از قارچ‌کش رورال‌تی‌اس در کاهش شدت بیماری و بهبود خصوصیات رشدی ارزیابی شد. در بررسی‌های آزمایشگاهی، فقط اسید اگزالیکیک دو و چهار میلی‌مولار، باکتری و قارچ‌کش از رشد میسلیومی بیمارگر ممانعت کردند. تمامی تیمارهای آزمایشی غیر از رورال‌تی‌اس، اسید سالیسیلیک یک و اسید اگزالیکیک دو میلی‌مولار، باعث افزایش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی بذور و طول ریشه‌چه در گیاهچه‌ها شدند. تیمارهای باکتری، پرایمینگ آبی، سلیکون دو، نانوسیلیکون چهار، متیل سالیسیلات ۰/۲ و ۰/۴ و اسیدسالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار، وزن تر و خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه را به‌طور معنی‌داری افزایش دادند. در شرایط گلخانه‌ای، تمامی تیمارهای آزمایشی شدت بیماری را در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش دادند و بهترین تأثیر در تیمارهای رورال‌تی‌اس، *B. methylotrophicus*، متیل سالیسیلات ۰/۱ و اسید سالیسیلیک ۰/۲۵ میلی‌مولار مشاهده شد. در شرایط مزرعه‌ای، کمترین میزان تلفات به‌ترتیب در کاربرد انفرادی نانوسیلیکون یک و متیل سالیسیلات ۰/۲ میلی‌مولار مشاهده شد در حالی که در تیمارهای تلفیقی، کمترین تلفات با کاربرد توأم باکتری آنتاگونیست با نانوسیلیکون یک یا دو میلی‌مولار به‌دست آمد. بر اساس این پژوهش، کاربرد باکتری آنتاگونیست و مواد القا کننده مقاومت به‌صورت انفرادی یا تلفیقی، روش مؤثری در کاهش شدت بیماری در گیاه عدس می‌باشد.

کلمات کلیدی: پرایمینگ، مواد القا کننده مقاومت، *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*، *Lens culinaris*

Effect of lentil seed priming as hydropriming, biopriming and with resistance inducing materials in management of Fusarium wilt disease under laboratory, glasshouse and field conditions

Ali Viani¹✉, Hamid Reza Pouralibaba², Sanam Abolfathzadeh¹

¹Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. ²Dry land Agricultural Research Institute; Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), Maragheh, Iran. ✉ viani@tabrizu.ac.ir

Received: 29 Jan 2021

Revised: 19 Mar 2021

Accepted: 25 Apr 2021

Abstract

Lentil wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* is one of the most important diseases of this plant in dryland areas of the Iran country. In this study, the effect of lentil seed priming with different concentrations of resistance inducing materials, biopriming (with bacterial antagonist *Bacillus methylotrophicus*), hydropriming and application of fungicide Rovral TS was evaluated in reduction in disease severity and promoting growth properties. In the laboratory, only oxalic acid 2 and 4 mM, fungicide and the bacterium inhibited the mycelial growth of pathogen. All of the treatments except Rovral TS, salicylic acid 1 and oxalic acid 2 mM increased seed germination and rootlet length significantly. Treatments of *Bacillus*, hydropriming, silicon 2, silicon nanoparticles 4, methyl salicylate 0.2 and 0.4 and salicylic acid 0.5 mM increased the wet and dry weight of rootlet and plumule significantly. In the greenhouse conditions, all experimental treatments were able to significantly reduce the disease severity in the plants compared with the control and the best result was achieved using Rovral TS, antagonist, methyl salicylate 0.1 and salicylic acid 0.25 mM, respectively. In the field conditions, the least percentage of mortality was observed in individual application of silicon nanoparticles 1 mM and methyl salicylate 0.2 mM respectively while in the combined treatments, the least mortality was obtained through application of bacterium with silicon nanoparticles 2 or 4 mM. According to this research, the application of antagonistic bacterium and resistance inducing materials individually or in combination, is an effective way to decrease disease severity in lentil plants.

Keywords: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis*, *Lens culinaris*, Priming, Resistance inducers

How to cite:

Viani A, Pouralibaba HR, Abolfathzadeh S, 2022. Effect of lentil seed priming as hydropriming, biopriming and with resistance inducing materials in management of Fusarium wilt disease under laboratory, glasshouse and field conditions. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 10 (4): 47-59.

مقدمه

عدس (*Lens culinaris* Medik.) مهم‌ترین محصول حبوبات پس از نخود در مناطق دیم خیز کشور است و ایران با داشتن ۱۳۵ هزار هکتار سطح زیر کشت عدس، جزو ۱۰ کشور اول تولید کننده این محصول در جهان است اما میانگین عملکرد آن (۵۲۳ کیلوگرم در هکتار) کمتر از نصف میانگین تولید جهانی یعنی ۱۱۹۴ کیلوگرم بر هکتار می‌باشد (FAO 2019). تنش‌های غیرزیستی و زیستی مانند بیماری‌ها از عمده عوامل محدود کننده تولید این محصول است (Infantino et al. 2006; Sabbaghpour 2014). پژمردگی فوزاریومی یکی از مهم‌ترین بیماری‌های عدس بوده و توسط قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* Gordon (1965) ایجاد می‌گردد. این بیماری از کلیه مناطق کشت عدس در جهان به جز استرالیا گزارش شده و گاهی قادر به انهدام کل محصول می‌باشد (Taylor et al. 2006). در ایران نیز پژمردگی فوزاریومی، از مهم‌ترین بیماری‌های عدس محسوب شده و هرساله خسارت زیادی به تولید وارد می‌کند (Pouralibaba et al. 2008). مهار زیستی و پرایمینگ بذور (Seed priming) از روش‌های مؤثر، کم‌خطر و دوستدار محیط زیست است که در سال‌های اخیر مورد استقبال قرار گرفته‌اند (Reignault & Walters 2007; Eivsand et al. 2008). پرایمینگ بذور نخود با باکتری آنتاگونیست *Pseudomonas fluorescens* Flugge باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کیتیناز و بتا ۱،۳ گلوکاناز و مقاومت به پژمردگی فوزاریومی و کاهش مرگ گیاهچه‌ها می‌شود (Kandolya et al. 2017). پوشش بذور نخود با *Trichoderma harzianum* Rifai یا *T. viride* Pers. و یا کاربرد آنها از طریق خاک، پژمردگی فوزاریومی را به‌طور مؤثر کنترل می‌کند اما با تلفیق پرایمینگ و کاربرد خاکی، کارایی این دو گونه بیشتر می‌شود (Dubey et al. 2013). با آغشته کردن بذورهای نخود با *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn و قارچ *T. harzianum*، این دو عامل آنتاگونیست اثر هم‌افزایی با یکدیگر نشان داده و باعث کنترل بهتر قارچ فوزاریوم عامل پژمردگی نخود در محیط آزمایشگاه و گلخانه می‌شوند (Jain et al. 2015). بر اساس گزارش Thaware et al. (2016) در شرایط آزمایشگاهی، عوامل آنتاگونیست مختلف شامل *T. koningii* Oudem, *T. harzianum*, *T. viride* و *P. fluorescens* از رشد میسلیومی عامل پژمردگی فوزاریومی نخود ممانعت کردند.

مقاومت القایی نوعی افزایش توان دفاعی گیاه با کاربرد میکروارگانیسم‌های زنده و یا برخی مواد شیمیایی محرک و القا کننده است که موجب کاهش بیماری از طریق افزایش فعالیت

آنزیم‌های دفاعی از جمله پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز می‌شود (Tavakol Noorabadi et al. 2014). در همین راستا، Veladi et al. (2013) تأثیر اسید سالیسیلیک و کیتوزان را به‌صورت پاشش برگی بر روی گیاه نخود بررسی کرده و این دو ماده را در القای مقاومت در نخود علیه عامل پژمردگی فوزاریومی و کاهش علائم بیماری، مؤثر گزارش نمودند. به گزارش Krol et al. (2015)، خیساندن بذور گوجه‌فرنگی در آب (هیدروپرایمینگ) یا محلول متیل جاسمونات (پرایمینگ هورمونی) و سپس مایه‌زنی گیاهچه‌ها با سوسپانسیون اسپورهای قارچ فوزاریوم عامل پژمردگی، شدت بیماری را در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. (Mahesh et al. 2017). نشان دادند که پرایمینگ بذور بادمجان با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار از اسید سالیسیلیک باعث افزایش جوانه‌زنی بذور، افزایش قدرت گیاهچه‌ها، کاهش وقوع بیماری پژمردگی ورتیسلیومی، افزایش رشد رویشی و افزایش پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی می‌شود. در یک تحقیق، پرایمینگ بذور لوبیا چشم بلبلی با اسید سالیسیلیک باعث بیشترین افزایش در اکثر صفات فتوسنتزی گیاه شده است (Pakmehr et al. 2014). در بررسی اثر تلقیح مایکوریزی و پرایمینگ بذور عدس به مدت هشت ساعت با آب یا غلظت ۱۰۰ پی‌پی‌ام از اسید سالیسیلیک، اسید جیبرلیک و مخلوط آن دو، نشان داده شده است که تلقیح با قارچ‌های مایکوریز و تیمارهای پرایمینگ بذور عدس تأثیر معنی‌داری بر طول ریشه، تعداد گره‌ها، غلظت فسفر اندام‌های هوایی و دانه، عملکرد دانه و عملکرد زیستی گیاه داشته است (Azarnia et al. 2016). در بررسی تأثیر زمان‌های مختلف پرایمینگ آبی بذور نخود بر تعداد شاخه‌های اصلی و جانبی، تعداد غلاف در هر گیاه، عملکرد زیستی، عملکرد دانه، مدت زمان کاشت تا ظهور گیاهچه‌ها، مدت زمان ظهور تا گلدهی و طول مدت زمان رشدی گیاه، نشان داده شده است که بهترین مدت زمان برای بهبود این شاخص‌ها، شش تا هشت ساعت است (Zarei et al. 2011). اما Ahmed et al. (2014) آنرا ۱۰ ساعت اعلام کرده‌اند.

تأثیر سیلیکون در افزایش مقاومت به بیماری نشان داده شده است (Sun et al. 2005). همچنین Tavakol Noorabadi et al. (2014) نشان داده‌اند که تیمار خاک با باکتری آنتاگونیست *P. fluorescens* و پاشش اندام‌های هوایی گوجه‌فرنگی با سیلیکون با غلظت سه میلی‌مولار، بیشترین تأثیر را در کاهش بیماری و افزایش رشد گیاه دارد. تأثیر کاربرد سیلیکون و بنزوتیادiazول (BTH) به‌صورت پاشش برگی در کنترل پژمردگی باکتریایی توتون گزارش و نشان داده شده است که سیلیکون،

اگزالیک (یک، دو، چهار میلی‌مولار)، سیلیکون (یک، دو، چهار میلی‌مولار) و نانو سیلیکون (یک، دو، چهار میلی‌مولار) بودند که برای خرید به شرکت بایوکم در ایران سفارش داده شدند. پس از جستجو در مقالات برای بررسی غلظت‌های مورد استفاده از این ترکیبات و بعد از انجام آزمایش‌های مقدماتی روی آنها، غلظت‌های نام‌برده شده به‌گونه‌ای انتخاب شدند که تأثیر سوئی بر جوانه‌زنی بذور عدس نداشته باشند (نتایج آزمایش‌های مقدماتی نشان داده نشده است).

پرایمینگ

سه نوع پرایمینگ بذور شامل پرایمینگ آبی (Hydropriming)، پرایمینگ با مواد القاکننده مقاومت (Resistance inducers priming) و زیستی (Biopriming) در این تحقیق به‌کار رفتند. در پرایمینگ آبی، بذور پس از ضدعفونی با محلول ۲٪ هیپوکلریت سدیم و شستشو با آب مقطر سترون، به مدت هشت ساعت داخل آب قرار داده شده و سپس روی کاغذ صافی سترون خشک شده و تا زمان کشت (حدود ۴۸ ساعت بعد) به‌صورت خشک نگهداری شدند. در تیمار شاهد از بذور معمولی خشک استفاده گردید. در پرایمینگ زیستی، بذور به مدت هشت ساعت داخل سوسپانسیون غلیظ باکتری *B. methylotrophicus* قرار گرفته و سپس در تاریکی خشک شده و حدود ۴۸ ساعت بعد، اقدام به کشت آنها شد. در پرایمینگ با مواد القاکننده مقاومت نیز، بذور به مدت هشت ساعت در محلول این ترکیبات خیسانده شده و پس از حدود ۴۸ ساعت خشک شدن روی کاغذ صافی سترون اقدام به کشت آنها شد. در تیمار شاهد از بذور معمولی بدون کاربرد مواد القاکننده استفاده گردید. در تیمار کنترل شیمیایی، بذور با قارچ‌کش‌های رورال‌تی‌اس (پودر قابل تعلیق ۵۲/۵ درصد، شرکت آریا شیمی) و کاربندازیم (پودر قابل تعلیق ۶۰ درصد، شرکت مهان) به میزان دو گرم به‌ازای هر کیلوگرم بذر (دو در هزار) آغشته شد.

ارزیابی تأثیر باکتری‌های آنتاگونیست بر عامل بیماری در شرایط آزمایشگاهی

توان آنتاگونیستی باکتری‌های مورد بررسی با انجام آزمون کشت متقابل (کشت هم‌زمان بیمارگر و باکتری آنتاگونیست در محیط کشت ترکیبی عصاره سیب‌زمینی دکستروز آگار+ آگار مغذی به نسبت ۱:۱) بررسی شد. تشک‌های پتری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت چهار الی پنج روز و تا زمان پوشیده

فعالیت آنزیم‌های دفاعی مانند پراکسیداز، بتا ۱ و ۳-گلوکاناز و BTH فعالیت پلی فنل اکسیداز و فنیل آلانین آمونیالیز را در برگ‌های گیاه افزایش می‌دهد (Li et al. 2016a). در یک تحقیق، Viani et al. (2021) برای مهار بیماری پوسیدگی نرم سیب‌زمینی از سیلیکون و نانوذرات سیلیکون و نیز باکتری آنتاگونیست *B. methylotrophicus* Madhaiyan et al. 2010 استفاده کرده و کاربرد آنها را در مهار بیماری و افزایش وزن تر و خشک گیاه، بسیار موثر گزارش کردند. با توجه به موارد فوق، این پژوهش با هدف ارزیابی تأثیر مهارکنندگی قارچ‌کش، باکتری آنتاگونیست و القاکننده‌های مقاومت در برابر عامل بیماری در شرایط آزمایشگاهی، گلخانه‌ای و مزرعه‌ای و نیز تأثیر آنها در بهبود خصوصیات رشدی گیاه عدس اجرا شد.

مواد و روش‌ها

عامل بیماری

جدایه قارچ فوزاریوم عامل بیماری، از مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم مراغه تهیه شد. برای تهیه زادمایه قارچ، جدایه بیمارگر بعد از خالص‌سازی به روش نوک‌ریسه، روی محیط کشت synthetic nutrient-poor agar (SNA) رشد داده شده و سپس برای تلقیح گیاهان، سوسپانسیونی از اسپورها با غلظت 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر با استفاده از لام هماسیتومتر تهیه گردید.

مواد گیاهی

بذور عدس توده بومی اردبیل که حساس در برابر پژمردگی فوزاریومی است (Pouralibaba et al. 2008) از مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم مراغه تهیه شد.

آنتاگونیست‌ها

B. methylotrophicus که جزو باکتری‌های آنتاگونیست و افزایش دهنده رشد گیاه است از شرکت رویان تیسان سبز و باکتری *B. subtilis* از شرکت زیست فن‌آور سبز تهیه شد. سویه باکتری‌ها پس از دریافت، در محیط کشت آگار مغذی کشت شده و سوسپانسیونی از باکتری‌ها با غلظت 10^8 سلول در هر میلی‌لیتر تهیه شد.

مواد القاکننده مقاومت

این مواد شامل اسید سالیسیلیک (۰/۲۵، ۰/۵، یک میلی‌مولار)، متیل سالیسیلات (۰/۱، ۰/۲، ۰/۴ میلی‌مولار)، اسید

ساعت تاریکی نگهداری شدند و آبیاری آنها هر هفته دو بار با استفاده از آب شهری انجام گرفت. مایه زنی گیاهچه‌ها در مرحله چهار تا شش برگی با استفاده از سوسپانسیون از کنیدیوم‌های قارچ بیمارگر با غلظت 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر به روش ریشه بریده (Omar et al. 1988) انجام شد. در تیمار شاهد، ریشه گیاهچه‌ها در آب مقطر استریل قرار داده شده و سپس در گلدان نشا گردید. شدت بیماری در مقیاس ۰-۴ اندازه‌گیری شد (Pouralibaba et al. 2015) که در آن ۰ = عدم وجود علائم بیماری، ۱ = زردی جزئی در حاشیه‌های برگ، ۲ = زردی کامل برگ‌ها، ۳ = پژمردگی و پیچیدگی و خشک شدن برگ‌ها یا ریزش آنها و ۴ = مرگ کامل گیاه بود. پس از اندازه‌گیری شدت نهایی بیماری، شاخص بیماری (Disease Index = DI) یا به عبارت دیگر شدت بیماری بر حسب درصد، طبق معادله زیر محاسبه گردید (Cachinero et al. 2002):

$$DI = [(n_i \times s_i) / (N \times S)] \times 100$$

در این معادله، n_i تعداد گیاهان در هر رتبه، s_i درجه مقیاس بیماری برای گیاهان همان رتبه، N تعداد کل گیاهان و S بالاترین درجه مقیاس بیماری می‌باشد.

بررسی تأثیر انواع پرایمینگ بذور در کنترل بیماری در شرایط مزرعه‌ای

این آزمایش در کرت‌های آلوده در مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور انجام گرفت. قطعه زمین مورد نظر، در پاییز سال ۱۳۹۸ شخم و دیسک زده شد و قبل از کشت، مقدار ۶۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره به آن اضافه گردید. تیمارهای آزمایشی به صورت انفرادی و تلفیقی در نظر گرفته شد. تیمارهای انفرادی شامل پرایمینگ آبی، زیستی (با کاربرد *B. methylotrophicus*)، با مواد القا کننده مقاومت (شامل غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک، متیل سالیسیلات، اسید اگزالیک، سیلیکون و نانو سیلیکون)، تیمار شیمیایی (با قارچ کش رورال تی‌اس) و شاهد بدون پرایمینگ و تیمارهای تلفیقی زیستی + مواد القا کننده مقاومت به صورت کاربرد همزمان باکتری آنتاگونیست با غلظت‌های مختلف هر کدام از مواد القا کننده مقاومت به صورت جداگانه بودند. کشت در اوایل بهار سال ۱۳۹۹ در شیارهای یک متری با احتساب تراکم دانه ۲۰۰ بوته در متر مربع به صورت دستی انجام شد. در فواصل هر دو تیمار، به تناوب یک خط تیمار شاهد (بدون هیچ گونه پیش تیمار) کشت شد. عملیات مرسوم داشت مانند دفع آفات و علف‌های هرز در طی فصل زراعی انجام گرفت. پس از توسعه کافی بیماری بر روی رقم

شدن کامل تشک پتری شاهد با پرگنه قارچ بیمارگر، نگهداری شده و درصد بازدارندگی از رشد شعاعی پرگنه قارچ بیمارگر در مقایسه با شاهد با معادله $I = [(C-T)/C] \times 100$ محاسبه شد (Skidmore & Dickinson 1976) که در آن I = درصد بازدارندگی، C = رشد شعاعی پرگنه قارچ بیمارگر در تیمار شاهد و T = رشد شعاعی پرگنه قارچ بیمارگر در ظرف پتری حاوی تیمارها بود. در تیمار شاهد، قارچ عامل بیماری بدون حضور باکتری آنتاگونیست کشت شد. عرض ناحیه بازدارندگی از رشد بیمارگر نیز با خط کش و با واحد میلی‌متر اندازه‌گیری گردید.

ارزیابی تأثیر قارچ‌کش‌ها و مواد القا کننده مقاومت بر عامل بیماری در شرایط آزمایشگاهی

قارچ‌کش‌ها و مواد القا کننده مقاومت در غلظت‌های ذکر شده تهیه و با استفاده از فیلتر سر سرنگی، سترون شده و سپس با محیط کشت آزمایشگاهی در دمای حدود ۵۰ درجه سانتی‌گراد مخلوط شدند. قارچ‌های عامل بیماری در ظروف پتری حاوی این مواد، کشت گردیده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در تیمار شاهد، قارچ‌ها در ظروف پتری فاقد قارچ‌کش و مواد القا کننده مقاومت کشت شدند. بعد از حدود چهار الی پنج روز و پوشانده شدن سطح محیط کشت با قارچ بیمارگر در تشک شاهد، درصد بازدارندگی از رشد شعاعی پرگنه قارچ در مقایسه با شاهد بر اساس همان معادله قبلی محاسبه شد.

بررسی تأثیر انواع پرایمینگ در بهبود خصوصیات رشدی گیاه در شرایط آزمایشگاهی

بذور عدس پیش تیمار شده، در داخل ظروف پتری به قطر ۱۵ سانتی‌متر حاوی کاغذ صافی سترون مرطوب در دمای حدود ۱۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا جوانه‌زنی آنها صورت گیرد. هر روز مقدار اندکی آب مقطر سترون به کاغذهای صافی اضافه شده و وضعیت جوانه‌زنی بررسی گردید. یک هفته پس از نگهداری بذور در این ظروف، درصد جوانه‌زنی نرمال اندازه‌گیری شد. در هر گیاهچه، قسمت ریشه‌چه از ساقه‌چه جدا گردیده و سپس طول ریشه‌چه، وزن تر و خشک ریشه‌چه و وزن تر و خشک ساقه‌چه به طور جداگانه توزین گردید.

تأثیر انواع پرایمینگ در کنترل بیماری در شرایط گلخانه‌ای

بذور پیش تیمار شده در گلدان‌های پلاستیکی به قطر هشت سانتی‌متر حاوی پرلیت سترون کشت شده و در شرایط گلخانه‌ای در دمای 28 ± 2 و با تناوب نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰

رشد شعاعی میسلیوم قارچ بیمارگر در کشت متقابل با باکتری‌های آنتاگونیست

باکتری‌های *B. subtilis* و *B. methylotrophicus* در کشت متقابل با قارچ بیمارگر به ترتیب ۴۹/۵ و ۲۵ درصد، بازدارندگی از رشد شعاعی پرگنه قارچ نشان داده و عرض ناحیه بازدارندگی از رشد نیز به وسیله این دو باکتری به ترتیب ۱۴ و هفت میلی‌متر اندازه‌گیری شد (شکل ۱). با توجه به تأثیر بهتر باکتری *B. methylotrophicus* در مهار قارچ عامل بیماری، در ادامه آزمایشات گلخانه‌ای و مزرعه‌ای فقط از این گونه استفاده شد.

رشد شعاعی میسلیوم قارچ بیمارگر در محیط کشت محتوی مواد القا کننده مقاومت و قارچ‌کش‌ها

تجزیه واریانس میزان رشد شعاعی میسلیوم قارچ بیمارگر نشان داد که بین تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($MS_T = 339.4$, $df = 17$, $p \leq 0.01$, $CV = 4.66$). با مقایسه میانگین‌ها مشخص شد که هیچ‌کدام از تیمارها، به‌غیر از اسید اگزالیک دو و چهار میلی‌مولار و قارچ‌کش‌های کاربندازیم و رورال‌تی‌اس دو در هزار، نتوانستند از رشد میسلیومی قارچ بیمارگر جلوگیری کنند و تفاوت هیچ‌کدام از آنها با تیمار شاهد معنی‌دار نبود (جدول ۱). قارچ‌کش‌های کاربندازیم و رورال‌تی‌اس و اسید اگزالیک چهار میلی‌مولار به‌طور کامل و ۱۰۰ درصد مانع رشد میسلیومی بیمارگر شدند. با توجه به نتایج مشابه دو نوع قارچ‌کش، برای ادامه آزمایشات فقط از رورال‌تی‌اس استفاده شد.

حساس شاهد، درصد گیاهان از بین رفته تعیین شده و عکس العمل گیاه به بیماری با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Pouralibaba et al. 2015):

$$100 \times \frac{\text{تلفات تیمار آزمایشی}}{\text{میانگین تلفات شاهد های حساس مجاور}} = \text{درصد مرگ و میر بوته‌ها}$$

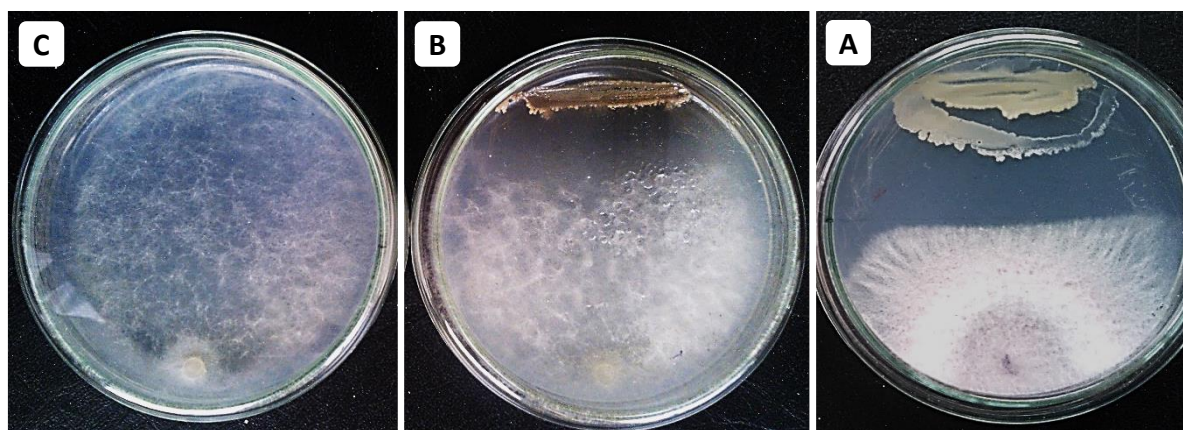
ارزیابی وزن زیست توده خشک پس از برداشت محصول و با گذاشتن بوته‌ها در آون در دمای ۷۲ درجه به مدت ۴۸ ساعت و سپس توزین آنها انجام گرفت. به دلیل خسارت پرندگان، متأسفانه دانه‌های هر کرت به‌طور کامل به‌دست نیامد و لذا در تجزیه و تحلیل نهایی وارد نشد.

طرح آزمایشی و تجزیه و تحلیل‌های آماری

آزمایش‌های درون شیشه‌ای و گلخانه‌ای به‌صورت طرح کاملاً تصادفی و آزمون مزرعه‌ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی هر دو با سه تکرار انجام گرفت. ابتدا یکنواختی و نرمال بودن داده‌ها با روش‌های Levene و O'Brien تست شد و برای نرمال بودن توزیع داده‌ها، تبدیل داده‌ها صورت گرفت. در نهایت تجزیه واریانس و مقایسه برای تجزیه آماری، میانگین‌ها به روش دانکن و با استفاده از نرم‌افزار SPSS ver.16 و STATISTIX ver 8 در سطح احتمال ۱٪ صورت گرفت.

نتایج

ارزیابی تأثیر مهارکنندگی قارچ‌کش‌ها، باکتری‌های آنتاگونیست و القاکننده‌های مقاومت بر عامل بیماری در شرایط آزمایشگاهی



شکل ۱. تأثیر باکتری‌های آنتاگونیست *Bacillus methylotrophicus* (A) و *B. subtilis* (B) در بازدارندگی از رشد شعاعی میسلیوم قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* عامل پژمردگی عدس پنج روز پس از کشت متقابل در مقایسه با شاهد (C).

Figure 1. Effect of the antagonistic bacteria *Bacillus methylotrophicus* (A) and *B. subtilis* (B) in inhibiting the radial growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* the causal agent of lentil wilt after five days in dual culture method compared to control plate (C).

میانگین‌ها نشان داد که تمامی تیمارها (غیر از اسید سالیسیلیک یک میلی‌مولار) وزن خشک ریشه‌چه را نسبت به شاهد افزایش دادند. بیشترین تأثیر مربوط به باکتری، متیل سالیسیلات ۰/۲ میلی‌مولار و سیلیکون دو میلی‌مولار و کمترین تأثیر هم در اسید سالیسیلیک یک میلی‌مولار مشاهده شد. اسید اگزالیک چهار میلی‌مولار به کلی مانع جوانه‌زنی بذور شده و در نتیجه، وزن خشک ریشه‌چه، برابر صفر بود. وزن خشک ساقه‌چه عدس نیز در اغلب تیمارها بیشتر از شاهد بود. بیشترین تأثیر مربوط به باکتری آنتاگونیست، نانوسیلیکون چهار میلی‌مولار و پرایمینگ آبی بوده و کمترین میزان نیز در تیمارهای اسید اگزالیک دو میلی‌مولار و اسید سالیسیلیک یک و ۰/۲۵ میلی‌مولار مشاهده شد. در تیمار اسید اگزالیک چهار میلی‌مولار، وزن خشک ساقه‌چه عدس صفر بود (جدول ۱).

بررسی تأثیر پرایمینگ بذور عدس به صورت آبی، زیستی، با مواد القا کننده مقاومت و تیمار قارچ‌کش در القای مقاومت به بیماری

ارزیابی شدت بیماری در شرایط گلخانه‌ای: تجزیه واریانس میانگین درصد شدت بیماری در بوته‌های عدس نشان داد که بین تیمارهای آزمایشی اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد ($MS_{\text{disease severity}} = 876.8, df = 18, p \leq 0.01, CV = 12.7$). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میانگین درصد شدت بیماری در تمامی تیمارها (غیر از اسید اگزالیک چهار میلی‌مولار و پرایمینگ آبی) به‌طور معنی‌داری، کمتر از تیمار شاهد بود. کمترین درصد شدت بیماری در تیمارهای رورال‌تی‌اس، متیل سالیسیلات ۰/۱ میلی‌مولار، باسیلوس و اسید سالیسیلیک ۰/۲۵ میلی‌مولار مشاهده شد. تمامی تیمارهای آزمایشی (غیر از اسید اگزالیک چهار میلی‌مولار که در آن بذرها پوسیده و از بین رفتند و هیچ بوته‌ای حاصل نشد و تیمار پرایمینگ آبی که فاقد اختلاف معنی‌دار با شاهد بود)، توانستند بیماری را در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری مهار کنند. بیشترین میزان مهار بیماری به‌ترتیب در تیمارهای رورال‌تی‌اس، متیل سالیسیلات ۰/۱ میلی‌مولار، باسیلوس و اسید سالیسیلیک ۰/۲۵ میلی‌مولار مشاهده شد (جدول ۲).

ارزیابی بیماری در شرایط مزرعه‌ای

تجزیه و تحلیل واریانس درصد تلفات بوته‌های عدس نشان داد که تفاوت آماری معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی انفرادی ($MS_{\text{individual}} = 5.7 \times 10^{-4}; df = 18; p \leq 0.01$) و تیمارهای

بررسی تأثیر پرایمینگ آبی، زیستی، با مواد القا کننده مقاومت و تیمار شیمیایی بذور در بهبود خصوصیات رشدی گیاه در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای

درصد جوانه زنی بذرها: تجزیه واریانس میانگین درصد جوانه‌زنی بذور عدس، نشانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی بود ($MS_{\text{seed germination}} = 2393; df = 18; p \leq 0.01$). تمامی تیمارها در مقایسه با شاهد، باعث افزایش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی شدند. در تیمارهای رورال‌تی‌اس و اسید سالیسیلیک یک میلی‌مولار، این شاخص با اختلاف معنی‌دار، کمتر از شاهد بود. تیمار اسید اگزالیک چهار میلی‌مولار نیز به کلی مانع جوانه‌زنی بذرها شد (جدول ۱).

طول ریشه‌چه: تجزیه واریانس میانگین طول ریشه‌چه در گیاهچه‌های عدس نشان داد که بین تیمارهای آزمایشی اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد ($MS_{\text{rootlet length}} = 3.54; df = 18; p \leq 0.01$). برخی تیمارهای آزمایشی، طول ریشه‌چه را با اختلاف آماری معنی‌دار، نسبت به شاهد افزایش دادند. بالاترین میزان این شاخص، در تیمارهای متیل سالیسیلات ۰/۲ میلی‌مولار، نانوسیلیکون چهار میلی‌مولار و باکتری باسیلوس و کمترین آن در تیمارهای رورال‌تی‌اس و اسید سالیسیلیک یک میلی‌مولار، مشاهده شد (جدول ۱).

وزن تر و خشک گیاهچه: تجزیه و تحلیل واریانس وزن تر و خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه بعد از تیمار بذور با مواد القا کننده مقاومت و باکتری آنتاگونیست نشانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها بود ($MS_{\text{rootlet wet weight}} = 444.6, MS_{\text{plumule wet weight}} = 448.8, MS_{\text{rootlet dry weight}} = 6.86, MS_{\text{plumule dry weight}} = 14.45; df = 18; p \leq 0.01$). ضریب تغییرات آزمایش (CV) در تمامی شاخص‌های بررسی شده کمتر از ۱۰ بود. بر اساس مقایسه میانگین‌ها، برخی تیمارها وزن تر ریشه‌چه را نسبت به شاهد افزایش و برخی کاهش دادند. بیشترین تأثیر به‌ترتیب مربوط به باکتری آنتاگونیست، پرایمینگ آبی، متیل سالیسیلات ۰/۴ میلی‌مولار و سیلیکون دو میلی‌مولار بود. کمترین تأثیر را هم اسید سالیسیلیک یک میلی‌مولار و اسید اگزالیک دو میلی‌مولار نشان دادند. اسید اگزالیک چهار میلی‌مولار به کلی مانع جوانه‌زنی بذور شده و در نتیجه، وزن تر ریشه‌چه در این تیمار، برابر صفر بود. در مورد وزن تر ساقه‌چه نیز بیشترین تأثیر مربوط به باکتری، پرایمینگ آبی، نانوسیلیکون چهار میلی‌مولار و اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار بوده و کمترین میزان نیز در تیمارهای اسید سالیسیلیک یک میلی‌مولار، اسید اگزالیک دو میلی‌مولار و متیل سالیسیلات ۰/۱ میلی‌مولار مشاهده شد. در تیمار اسید اگزالیک چهار میلی‌مولار، وزن تر ساقه‌چه عدس صفر بود. مقایسه

توانست ۴۹/۵ درصد از رشد شعاعی میسلیم قارچ بیمارگر جلوگیری نماید و بنابراین اثر مهار کنندگی این دو باکتری به اثبات رسید.

محققین دیگر نیز در بررسی‌های خود، به تأثیر مثبت این باکتری‌ها در مهار بیمارگرها اشاره کرده‌اند (Parsa et al. 2018; Jemil et al. 2017). طبق یک گزارش تحقیقی، باکتری مذکور لیپوپپتیدهایی از خانواده‌های سورفکتین (Surfactin)، ایتورین (Iturin) و فنجی‌سین (Fengycin) شامل چهار نوع لیپوپپتید، چهار نوع پومیل‌اسیدین (Pumilacidin)، پنج نوع ایتورین‌آ، پنج نوع از باسیلومایسین‌دی (Bacillomycin D) و شش نوع فنجی‌سین تولید می‌کند (Jemil et al. 2017) لذا در تحقیق حاضر نیز می‌توان گفت که تولید این آنتی‌بیوتیک‌ها در بازدارندگی از رشد قارچ‌های بیمارگر در نخود و عدس دخیل بوده‌اند.

در تحقیق حاضر، هیچ‌کدام از مواد القا کننده مقاومت شامل اسید سالیسیلیک، متیل سالیسیلات، اسید اگزالیک، سیلیکون و نانو سیلیکون پس از مخلوط شدن با محیط کشت قارچی نتوانستند از رشد میسلیم قارچ فوزاریوم عامل پژمردگی ممانعت کنند (به‌غیر از اسید اگزالیک دو و چهار میلی‌مولار). این نتیجه با یافته‌های برخی محققین دیگر عدم مطابقت و در مواردی نیز مطابقت نشان داد. به‌عنوان مثال (Safari 2018) نیز بازدارندگی اسید اگزالیک ۲/۵ و پنج میلی‌مولار از رشد میسلیم قارچ عامل بیماری لکه موی سیب زمینی را مورد تأیید قرار داده‌اند. در تحقیق حاضر غلظت‌های پایین‌تری از اسید سالیسیلیک و سایر مواد القا کننده مورد استفاده قرار گرفت زیرا بر اساس آزمایشات مقدماتی صورت گرفته، در غلظت‌های بالاتر این ترکیبات، خاصیت گیاهسوزی و ممانعت کامل از جوانه‌زنی بذور مشاهده شد (نتایج نشان داده نشده است). اغلب محققین در بررسی‌های خود، اغلب فقط تأثیر اسید سالیسیلیک را روی بیمارگرها بررسی کرده و هم اینکه در آزمایش‌های خود، غلظت‌های بالاتری از آن را مورد استفاده قرار داده و مهار رشد میسلیم قارچ‌های بیمارگر مختلف را گزارش نموده‌اند (Veladi et al. 2013, Jabnoun-Khiareddine et al. 2015, Yousefi et al. 2011, Saad et al. 2014, Qi et al. 2012) و این اختلاف غلظت مورد استفاده می‌تواند توجیه کننده تفاوت در نتایج این تحقیق با گزارشات سایر محققین باشد.

تلفیقی ($MS_{integrated} = 5.68 \times 10^{-4}$; $df = 17$; $p \leq 0.01$) وجود دارد. مقایسه میانگین‌های درصد تلفات نسبی عدس در حالت انفرادی تیمارها، نشان داد که غیر از پرایمینگ آبی، بقیه تیمارها از نظر درصد مرگ و میر، تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد دارند و کمترین میزان توسعه بیماری، در تیمار نانو سیلیکون یک میلی‌مولار (۰/۲۸)، متیل سالیسیلات ۰/۲ میلی‌مولار (۰/۳۴) و اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار (۰/۳۶) مشاهده شد (جدول ۲). در حالت تلفیقی نیز، کمترین میزان تلفات نسبی در ترکیب باکتری با تیمارهای نانو سیلیکون یک و دو میلی‌مولار (۰/۳۸)، سیلیکون چهار میلی‌مولار (۰/۳۹) و متیل سالیسیلات ۰/۱ میلی‌مولار (۰/۴۲) به‌دست آمد (جدول ۲).

وزن زیست‌توده خشک (کلش): تجزیه و تحلیل واریانس وزن زیست توده بوته‌های عدس در کاربرد انفرادی تیمارها نشان داد که بین تیمارهای آزمایشی تفاوت آماری معنی‌داری وجود دارد ($MS_T = 0.37$, $df = 18$, $p \leq 0.01$, $CV = 29.23$) ولی در تیمارهای تلفیقی، تفاوت آنها با یکدیگر معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تمام تیمارهای انفرادی غیر از پرایمینگ آبی، باکتری، قارچ‌کش و اسید سالیسیلیک یک میلی‌مولار به‌صورت معنی‌داری باعث افزایش وزن کلش در بوته‌ها می‌شوند و بیشترین وزن در کاربرد اسید سالیسیلیک ۰/۵ میلی‌مولار و متیل سالیسیلات ۰/۱ میلی‌مولار به‌دست آمد (جدول ۲).

بحث

در سال‌های اخیر استفاده مکرر از مواد شیمیایی سبب بروز مشکلاتی مانند آلودگی محیط زیست و بروز مقاومت در عوامل بیماری‌زای گیاهی شده است بنابراین امروزه گرایش زیادی به مهار زیستی بیمارگرها و افزایش مقاومت ذاتی گیاهان وجود دارد. کنترل عوامل بیماری‌زای خاکزاد به‌دلیل شرایط پیچیده موجود در خاک و ریزوسفر و تبادلات بیوشیمیایی و بیولوژیک گیاه و محیط اطراف آن، همواره با مشکلاتی توأم بوده است لذا بررسی امکان استفاده از روش‌های تلفیقی و القای مقاومت در کنترل این بیماری‌ها به‌نحوی که افزایش عملکرد و کاهش خسارات زیست محیطی را در بر داشته باشد، بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Reignault & Walters 2007).

در تحقیق حاضر، ابتدا تأثیر باکتری آنتاگونیست و مواد القا کننده مقاومت در بازدارندگی از رشد میسلیم قارچ‌های بیمارگر مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصل شده، هر دو باکتری در کشت متقابل با بیمارگر، تأثیر مثبتی در مهار آن داشته و به‌ویژه باکتری آنتاگونیست *B. methylotrophicus*

جدول ۱. میانگین ($\pm$ خطای معیار) رشد شعاعی میسلیم قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* در محیط کشت محتوی مواد القا کننده مقاومت و تاثیر پیش تیمار بذور عدس به صورت زیستی (B)، آبی (Hy)، با مواد القا کننده مقاومت (RI) و تیمار قارچ کش (F) بر خصوصیات رشدی گیاه در شرایط آزمایشگاهی.

Table 1. The mean ($\pm$ SE) of the radial growth of mycelium of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* in culture medium containing resistance inducers and the effect of biopriming (B), hydropriming (Hy), priming with resistance inducers (RI) and fungicidal treatment (F) of lentil seeds on the plant growth properties under in vitro conditions.

Treatments	in vitro						
	Radial growth of mycelium (mm)	Rootlet Length (cm)	Seed germination (%)	Rootlet Wet Weight (mg)	Plumule Wet Weight (mg)	Rootlet Dry Weight (mg)	Plumule Dry Weight (mg)
Control	32.3 $\pm$ 0.58 a	3.4 $\pm$ 0.17 de	85 $\pm$ 1.73 b	30 $\pm$ 1.73 d	32 $\pm$ 1.15 d	3.3 $\pm$ 0.06 g	5 $\pm$ 0.29 ef
Hydropriming (Hy)	No data	3.35 $\pm$ 0.17 de	100 $\pm$ 0 a	54 $\pm$ 2.31 a	49 $\pm$ 1.73 b	5 $\pm$ 0.23 d	8 $\pm$ 0.29 b
Rovral TS 2 g/L (F)	3 $\pm$ 0.0 d	2 $\pm$ 0.12 h	55 $\pm$ 2.89 c	34 $\pm$ 1.73 c	32 $\pm$ 1.15 d	4 $\pm$ 0.12 f	6 $\pm$ 0.23 d
Oxalic acid 1 mM (RI)	30.1 $\pm$ 0.65 b	3.56 $\pm$ 0.17 de	100 $\pm$ 0 a	35 $\pm$ 1.73 c	21 $\pm$ 0.58 fg	5 $\pm$ 0.17 d	3.8 $\pm$ 0.12 gh
Oxalic acid 2 mM (RI)	25.2 $\pm$ 1.01 c	3 $\pm$ 0.12 f	100 $\pm$ 0 a	23 $\pm$ 1.27 f	19 $\pm$ 1.27 gh	3.8 $\pm$ 0.12 f	2.5 $\pm$ 0.06 j
Oxalic acid 4 mM (RI)	3 $\pm$ 0.0 d	0 $\pm$ 0 i	0 $\pm$ 0 e	0 $\pm$ 0 h	0 $\pm$ 0 i	0 $\pm$ 0 i	0 $\pm$ 0 k
Salicylic acid 0.25 mM (RI)	30.2 $\pm$ 0.65 b	3.22 $\pm$ 0.17 ef	100 $\pm$ 0 a	36 $\pm$ 2.31 bc	21 $\pm$ 0.58 fg	5.5 $\pm$ 0.12 c	3.3 $\pm$ 0.06 hi
Salicylic acid 0.5 mM (RI)	30.3 $\pm$ 0.66 b	3.38 $\pm$ 0.23 de	100 $\pm$ 0 a	35 $\pm$ 1.73 c	40 $\pm$ 2.31 c	5 $\pm$ 0.12 d	5.6 $\pm$ 0.17 de
Salicylic acid 1 mM (RI)	31 $\pm$ 1.04 ab	2.5 $\pm$ 0.12 g	30 $\pm$ 2.31 d	15 $\pm$ 0.58 g	15 $\pm$ 0.29 h	2.5 $\pm$ 0.06 h	3 $\pm$ 0.06 ij
Methyl salicylate 0.1 mM (RI)	31 $\pm$ 0.72 ab	4 $\pm$ 0.17 c	100 $\pm$ 0 a	34 $\pm$ 1.15 c	20 $\pm$ 1.15 g	5 $\pm$ 0.6 d	4 $\pm$ 0.12 gh
Methyl salicylate 0.2 mM (RI)	30.5 $\pm$ 0.72 b	5 $\pm$ 0.29 a	100 $\pm$ 0 a	31 $\pm$ 1.15 d	28 $\pm$ 1.44 de	6 $\pm$ 0.17 b	7 $\pm$ 0.23 c
Methyl salicylate 0.4 mM (RI)	31.5 $\pm$ 0.87 a	3.44 $\pm$ 0.17 de	100 $\pm$ 0 a	38 $\pm$ 1.73 b	26 $\pm$ 1.15 ef	5.6 $\pm$ 0.12 bc	6.3 $\pm$ 0.9 cd
Silicon 1 mM (RI)	30.3 $\pm$ 0.73 b	3.44 $\pm$ 0.17 de	100 $\pm$ 0 a	36 $\pm$ 1.15 bc	27 $\pm$ 1.15 e	5.5 $\pm$ 0.12 bc	4.4 $\pm$ 0.06 fg
Silicon 2 mM (RI)	31.3 $\pm$ 0.73 a	3.3 $\pm$ 0.12 de	100 $\pm$ 0 a	38 $\pm$ 1.15 b	33 $\pm$ 0.87 d	6 $\pm$ 0.6 b	6 $\pm$ 0.12 d
Silicon 4 mM (RI)	30.3 $\pm$ 0.95 b	3.56 $\pm$ 0.17 de	100 $\pm$ 0 a	27 $\pm$ 1.15 ef	29 $\pm$ 1.15 de	4.5 $\pm$ 0.12 e	5.5 $\pm$ 0.12 de
Silicon Nanoparticles 1 mM (RI)	30.6 $\pm$ 0.65 ab	4.05 $\pm$ 0.23 c	100 $\pm$ 0 a	33 $\pm$ 1.15 cd	28 $\pm$ 1.15 de	4.5 $\pm$ 0.06 e	5 $\pm$ 0.12 ef
Silicon Nanoparticles 2 mM (RI)	30.6 $\pm$ 0.65 ab	4 $\pm$ 0.23 c	100 $\pm$ 0 a	27 $\pm$ 1.15 ef	26 $\pm$ 0.58 ef	5 $\pm$ 0.06 d	6 $\pm$ 0.12 d
Silicon Nanoparticles 4 mM (RI)	32.1 $\pm$ 0.65 a	4.59 $\pm$ 0.29 b	100 $\pm$ 0 a	27 $\pm$ 0.58 ef	43 $\pm$ 1.73 c	5.7 $\pm$ 0.12 bc	8.5 $\pm$ 0.12 ab
<i>B. methylotrophicus</i> (B)	No data	4.65 $\pm$ 0.29 b	100 $\pm$ 0 a	56 $\pm$ 2.31 a	53 $\pm$ 1.73 a	6.7 $\pm$ 0.09 a	9 $\pm$ 0.17 a

* Means with the same letter in each column are not significantly different at $p \leq 0.01$ probability using Duncan's test.

جدول ۲. میانگین ($\pm$ خطای معیار) تاثیر پیش تیمار بذور عدس به صورت زیستی (B)، آبی (Hy)، با مواد القاکننده مقاومت (RI) و تیمار قارچ کش (F) بر شدت پژمردگی فوزاریومی و درصد مهار آن در شرایط گلخانه‌ای و تاثیر آنها بر وزن زیست توده خشک و درصد مرگ بوته‌ها در تیمارهای انفرادی و تلفیقی از زیستی + مواد القا کننده مقاومت (RI+B) در شرایط مزرعه‌ای.

Table 2. The mean ($\pm$ SE) of the effect of biopriming (B), hydropriming (Hy), priming with resistance inducers (RI) and fungicidal treatment (F) of lentil seeds on severity of *Fusarium* wilt disease and percentage of its control under glasshouse conditions and their effect on biomass dry weight and percentage of plants mortality in individual treatments and integrated treatments of biopriming + resistance inducers (RI+B) on farm conditions.

Treatments	Glasshouse		Farm		
	Disease severity (%)	Disease control (%)	Relative mortality in individual treatments (%)	Relative mortality in integrated (RI+B) treatments (%)	Relative biomass weight in individual treatments
Control	80 $\pm$ 0 a	0 i	100 $\pm$ 0 a	100 $\pm$ 0 a	100 $\pm$ 0 g
Hydropriming (Hy)	70 $\pm$ 5.77 b	12.50 $\pm$ 4.33 h	100 $\pm$ 10.6 a	No data	59.25 $\pm$ 42.08 h
Rovral TS 2 g/L (F)	15 $\pm$ 0 g	81.25 $\pm$ 0 a	74 $\pm$ 3.8 bc	No data	116.21 $\pm$ 26.25 efg
Oxalic acid 1 mM (RI)	45 $\pm$ 2.88 cd	43.75 $\pm$ 3.61 ef	50 $\pm$ 8.1 de	87 $\pm$ 18.20 bc	161.34 $\pm$ 44.56 bc
Oxalic acid 2 mM (RI)	55 $\pm$ 2.88 c	31.25 $\pm$ 3.61 g	55 $\pm$ 9.1 cd	90.74 $\pm$ 19.20 b	123.69 $\pm$ 20.68 ef
Oxalic acid 4 mM (RI)	No data	No data	82 $\pm$ 21 b	88 $\pm$ 19.80 b	100.19 $\pm$ 5.40 g
Salicylic acid 0.25 mM (RI)	30 $\pm$ 0 e	62.50 $\pm$ 0 bc	40 $\pm$ 3.4 fg	61 $\pm$ 7.80 de	129.42 $\pm$ 28.50 de
Salicylic acid 0.5 mM (RI)	35 $\pm$ 2.88 de	56.25 $\pm$ 3.61 cd	36 $\pm$ 10.6 gh	81 $\pm$ 15.60 bcd	189.75 $\pm$ 83.06 a
Salicylic acid 1 mM (RI)	55 $\pm$ 5.77 c	31.25 $\pm$ 7.23 g	64 $\pm$ 3.5 c	64 $\pm$ 18.40 de	112.25 $\pm$ 16.53 efg
Methyl salicylate 0.1 mM (RI)	25 $\pm$ 0 f	68.75 $\pm$ 0 b	43 $\pm$ 4.6 f	42 $\pm$ 8.00 fg	189.00 $\pm$ 90.41 a
Methyl salicylate 0.2 mM (RI)	40 $\pm$ 2.88 cd	50.00 $\pm$ 3.61 de	34 $\pm$ 3.3 gh	59 $\pm$ 8.20 de	153.71 $\pm$ 40.18 cd
Methyl salicylate 0.4 mM (RI)	45 $\pm$ 2.88 cd	43.75 $\pm$ 3.61 ef	58 $\pm$ 12.9 cd	45 $\pm$ 20.22 fg	120.38 $\pm$ 26.00 ef
Silicon 1 mM (RI)	40 $\pm$ 0 cd	50.00 $\pm$ 0 de	51 $\pm$ 17.4 de	53 $\pm$ 8.55 ef	143.93 $\pm$ 25.65 d
Silicon 2 mM (RI)	45 $\pm$ 2.88 cd	43.75 $\pm$ 3.61 ef	50 $\pm$ 8.4 de	63 $\pm$ 23.87 de	126.46 $\pm$ 7.35 def
Silicon 4 mM (RI)	55 $\pm$ 5.77 c	31.25 $\pm$ 7.23 g	52 $\pm$ 15 de	39 $\pm$ 4.52 gh	131.48 $\pm$ 36.78 de
Silicon Nanoparticles 1 mM (RI)	45 $\pm$ 2.88 cd	43.75 $\pm$ 3.61 ef	28 $\pm$ 3.2 g	38 $\pm$ 2.89 gh	159.83 $\pm$ 45.39 bc
Silicon Nanoparticles 2 mM (RI)	50 $\pm$ 0 c	37.50 $\pm$ 0 fg	47 $\pm$ 12.4 ef	38 $\pm$ 15.37 gh	129.91 $\pm$ 7.98 de
Silicon Nanoparticles 4 mM (RI)	50 $\pm$ 5.77 c	37.50 $\pm$ 7.23 fg	44 $\pm$ 10.5 f	53 $\pm$ 24.70 ef	129.71 $\pm$ 19.68 de
<i>B. methylotrophicus</i> (B)	30 $\pm$ 0 e	62.50 $\pm$ 0 cd	85 $\pm$ 6.1 b	No data	58.75 $\pm$ 44.29 h

* Means with the same letter in each column are not significantly different at $p \leq 0.01$ probability using Duncan's test.

همه آنها می‌توانند بر جمعیت باکتری آنتاگونیست و کاهش کارایی آن تاثیر گذار باشند. در شرایط گلخانه‌ای، هم عوامل محیطی مثل نور و دما و رطوبت تحت کنترل بوده و هم از خاک پاستوریزه برای کاشت گیاهان استفاده می‌شود بنابراین آنتاگونیست مذکور بدون تاثیر پذیری از مسئله رقابت، بهتر و بیشتر می‌تواند نقش خود را در مهار بیمارگر ایفا کند.

در تحقیق حاضر، در شرایط گلخانه‌ای، تمامی مواد القا کننده مقاومت (غیر از اسید اگزالیک چهار میلی‌مولار) شدت بیماری پژمردگی فوزاریومی عدس را به میزان ۳۰ تا ۷۰ درصد نسبت به شاهد کاهش دادند. نتایج مشابهی در یافته‌های پژوهشگران دیگر نیز مورد اشاره قرار گرفته‌اند (Veladi et al. 2013; Song et al. 2011; Tavakol Noorabadi et al. 2014; Li et al. 2016a; Diago & Videra 2007; Jinger et al. 2017). از ساز و کارهای ایجاد مقاومت در گیاهان در برابر بیمارگرهای مختلف با کاربرد مواد القا کننده مقاومت و مهم‌تر از همه اسید سالیسیلیک، مواردی چون افزایش بیان ژن‌های PR، تجمع پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی، تولید گونه‌های اکسیژن فعال، افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی و بروز پاسخ فوق حساسیت ذکر شده است (Stein et al. 2008; Song et al. 2011). بر اساس گزارش‌های تحقیقاتی، تیمار گیاهان خیار با اسید سالیسیلیک باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز و مقاومت در برابر مرگ گیاهچه ناشی از پیتوم (Sabbagh et al. 2016) شده و در گیاه گوجه‌فرنگی نیز اسید سالیسیلیک با افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایاز، در برابر پژمردگی فوزاریومی ایجاد مقاومت می‌کند (Dashtipoor et al. 2018). تاثیر متیل سالیسیلات نیز در افزایش وزن خشک اندام‌های هوایی گندم و کاهش قابل توجه بیماری پاخوره گندم بعد از عمل پیش تیمار بذور گندم، در گزارش صفری و همکاران (Safari et al. 2020) مورد اشاره قرار گرفته است.

گزارش شده که سیلیکون، مقاومت در برابر تنش‌های زیستی را از طریق تحریک تولید ترکیبات دفاعی مانند مواد فنلی و فایتوالکسین‌ها افزایش داده (Remus-Borel et al. 2005) و باعث فعال شدن برخی آنزیم‌های دفاعی مانند پراکسیداز، لیپوکسیژناز (Lipoxygenase)، پلی‌فنل اکسیداز و فنیل آلانین آمونیا لایاز شده است (Rahman et al. 2015). نانوذرات سیلیکون بعد از جذب در گیاه، در دیواره سلول‌های اپیدرمی یک پوشش دو لایه‌ای تشکیل داده و به‌عنوان مواد استحکام‌بخش دیواره سلولی عمل می‌کنند که عاملی برای پیشگیری از آلودگی‌های قارچی و باکتریایی و نماتدی بوده و مقاومت گیاهان را ممکن

به‌نظر می‌رسد در غلظت‌های مورد استفاده در این تحقیق، این ترکیبات فاقد تاثیر مستقیم و مهار کننده روی بیمارگر بوده‌اند. تاثیر اسید سالیسیلیک در گیاهان بیشتر به افزایش آنزیم‌های کیتیناز و بتا-۱ و ۳ گلوکاناز و القای مقاومت در گیاه نسبت داده شده است (Veladi et al. 2013). در یک تحقیق، نشان داده شد که اسید سالیسیلیک در غلظت‌های پائین و تا ۰/۶ میلی‌مولار، رشد میسلیم قارچ *F. graminearum* Schwabe نسبت به شاهد، حتی اندکی نیز افزایش می‌دهد ولی در غلظت‌های بالاتر باعث ممانعت رشدی می‌شود (Qi et al. 2012). El-Alwani (2014) در بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف اسید سالیسیلیک، غلظت ۳/۶ میلی‌مولار را دارای تاثیر اندک (۶/۸ درصد) در ممانعت از رشد میسلیم قارچ فوزاریوم عامل پژمردگی گوجه‌فرنگی دانسته و گزارش نمود که با افزایش غلظت به ۷/۲ و ۱۴/۵ میلی‌مولار، ممانعت از رشد میسلیم می‌تواند به ترتیب به ۳۷ و ۵۷ درصد می‌رسد.

تاثیر اسید اگزالیک، متیل سالیسیلات، سیلیکون و نانوسیلیکون بر قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی عدس برای اولین بار در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت و تا به حال هیچ گزارش دیگری در مورد تاثیر این مواد بر بیمارگر مذکور، منتشر نشده است.

در تحقیق حاضر، برای پرایمینگ زیستی بذور، از باکتری *B. methylophilus* استفاده شد و در نتیجه، وزن تر و خشک ریشه و ساقه گیاهچه‌ها در مقایسه با شاهد، به‌طور معنی‌داری افزایش یافت بنابراین، خاصیت افزایش دهنده رشد گیاه به‌وسیله این باکتری تایید شد. این نتیجه با گزارش‌های محققین دیگر در مورد تاثیر این باکتری بر رشد گیاه مطابقت کامل دارد (Parsa et al. 2018; Cheng et al. 2019; Ge et al. 2016). این باکتری توانست در شرایط گلخانه‌ای، بیماری را در بوته‌های عدس به میزان ۶۲/۵ درصد در مقایسه با شاهد مهار کند. تاثیر گونه‌های باسیلوس در مهار بیماری‌های مختلف در یافته‌های بسیاری از محققین نیز تصریح شده است (Jain et al. 2015; Gu et al. 2017; Li et al. 2016b). باکتری مذکور بیماری پژمردگی فوزاریومی عدس را در شرایط مزرعه‌ای فقط ۱۵ درصد توانست کاهش دهد. به نظر می‌رسد باکتری مذکور نتوانسته است خود را با شرایط مزرعه‌ای کاملاً سازگار کند و یا اینکه در عمل آغشته کردن بذور، غلظت و جمعیت باکتری برای حفاظت از گیاهچه‌ها کافی نبوده است. البته در شرایط مزرعه‌ای، عوامل آب و هوایی نیز تحت کنترل نبوده و از طرف دیگر در شرایط طبیعی خاک مزرعه، جمعیت میکروبی متنوعی وجود دارد که

۰/۲ و نیز اسید سالیسیلیک ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی مولار، هم در شرایط گلخانه‌ای و هم در شرایط مزرعه‌ای دارای بیشترین تاثیر (۵۰٪ یا بیشتر) در مهار بیماری در گیاهان عدس بودند و در تیمارهای انفرادی و تلفیقی در مزرعه نیز، نانوذرات سیلیکون یک و دو میلی مولار، بالای ۵۰٪ توانایی مهار بیماری را داشتند و از سوی دیگر، از آنجائی که این ترکیبات القا کننده مقاومت، هیچ خطر زیست محیطی نداشته، کم هزینه بوده و با عمل پرایمینگ بذور، به راحتی قابل استفاده هستند بنابراین می توان تیمار کردن بذور با آنها را در برنامه های مدیریت تلفیقی بیماری قرار داده و به کشاورزان منطقه توصیه نمود.

سپاسگزاری

از شرکت رویان تيسان سبز و شرکت زیست فن آور سبز به خاطر فراهم نمودن باکتری های آنتاگونیست سپاسگزاری می شود. این مقاله مستخرج از گزارش نهایی طرحی پژوهشی با نام "مدیریت تلفیقی پژمردگی فوزاریومی عدس و نخود در شرایط گلخانه ای و مزرعه ای با هیدروپرایمینگ، پرایمینگ زیستی و پرایمینگ هورمونی بذور" می باشد که از محل اعتبارات مدیریت امور پژوهشی دانشگاه تبریز اجرا گردیده است.

References

- Ahmed J, Lodhi MS, Saeed M, Asghar M, Shahwani N, 2014. Influence of different hydropriming times on seed germination and yield of chickpea under ecological conditions of Quetta. *Life Science: An International Journal* 8: 3048–3052.
- Azarnia M, Biabani A, Gholizadeh AL, Isvand HR, 2016. Investigation of the effect of mycorrhizal inoculation and seed priming on some quantitative and qualitative characteristics of lentils (*Lens culinaris* L.). *Journal of Water and Soil (Agricultural Sciences and Industries)* 30(3): 817–828 (in Persian with English abstract).
- Cachinero JM, Hervas A, Jimenez-Diaz RM, Tena M, 2002. Plant defence reactions against Fusarium wilt in chickpea induced by incompatible race 0 of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* and nonhost isolates of *F. oxysporum*. *Plant Pathology* 51:765–776.
- Cheng X, Ji X, Ge Y, Li J, Qi W, et al., 2019. Characterization of antagonistic *Bacillus methylophilus* isolated from rhizosphere and its biocontrol effects on maize stalk rot. *Phytopathology* 109(4): 571–581.
- Dashtipoor S, Sahebani N, Aminian HA, 2018. Application effects of *Bacillus subtilis* and salicylic acid on the tomato plants against *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* and *Meloidogyne javanica*. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 6 (4): 1–10 (in Persian with English abstract).
- Diogo RV, Wydra K, 2007. Silicon-induced basal resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum* is related to modification of pectic cell wall polysaccharide structure. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 70: 120–129.
- Dubey SC, 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.
- Eisvand HR, Tavakkol Afshari R, Sharifzadeh F, Maddah Arefi H, Hesamzadeh Hejazi SM, 2008. Improvement of physiological quality of deteriorated tall wheat grass (*Agropyron elongatum* Host) seeds by hormonal priming for control and drought stress conditions. *Iranian Journal of Crop Science* 39(1): 53–65.
- El-Alwany AM, 2014. Efficacy of salicylic acid & 2, 6-Dichloroisonicotinic Acid as systemic acquired resistance activators in vitro on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* radial growth. *Nature and Science* 12(9): 92–96.
- FAO, 2019. FAOSTAT/ production / crops, <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Ge B, Liu B, Nwet TT, Zhao W, Shi L, et al., 2016. *Bacillus methylophilus* Strain NKG-1, Isolated from Changbai mountain, China, has potential applications as a biofertilizer or biocontrol agent. *Plos One* 11(11): e0166079.
- است افزایش دهند (Strout et al. 2013). در مورد مواد القا کننده مقاومت مانند سیلیکون و نانوسیلیکون، تحقیقات سایر محققین نیز نشان دهنده نقش و تاثیر این مواد در القای مقاومت سیستمیک اکتسابی در گیاهان است (Liang et al. 2003; Viani et al. 2021).
- کاهش میزان وقوع بیماری در شرایط مزرعه ای در تیمارهای انفرادی از مواد القاکننده مقاومت، ۱۸ تا ۷۲ درصد و در تیمارهای ترکیبی از باکتری و مواد القاکننده مقاومت، ۵ تا ۶۲ درصد بود. (Pandey et al. 2017) نیز تلفیق روش بیوپرایمینگ بذور نخود با گونه های قارچی *T. harzianum*, *T. viride*, باکتری *P. fluorescens* و کاربرد خاکی این آنتاگونیست ها را بررسی کرده و تاثیر آن در کاهش درصد وقوع بیماری پژمردگی پوسیدگی ریشه را ۷۸–۴۶ درصد و افزایش محصول را ۲۷–۱۳ درصد گزارش کردند.
- این ترکیبات در شرایط گلخانه ای باعث افزایش جوانه زنی بذور، افزایش طول ریشه چه و افزایش وزن تر و خشک ریشه و ساقه و در شرایط مزرعه ای موجب بالا رفتن وزن زیست توده خشک گردیدند بنابراین نتایج مطالعات گلخانه ای و مزرعه ای در راستای همدیگر بوده و کاملاً با هم منطبق بودند. با توجه به اینکه از بین مواد مختلف مورد بررسی، متیل سالیسیلات ۰/۱ و

- Gu Q, Yang Y, Yuan Q, Shi G, Wu L, *et al.* 2017. Bacillomycin D produced by *Bacillus amyloliquefaciens* is involved in the antagonistic interaction with the plant pathogenic fungus *Fusarium graminearum*. *Applied Environmental Microbiology* 83(19): e01075-17.
- Infantino A, Kharat M, Riccioni L, Coyne CJ, McPhee KE, *et al.*, 2006. Screening techniques and sources of resistance to root diseases in cool season food legumes. *Euphytica* 147: 201-221.
- Jabnoun-Khiareddine H, El-Mohamedy RSR, Abdel-Kareem F, Aydi Ben Abdallah R, Gueddes-hahed M, *et al.*, 2015. Variation in chitosan and salicylic acid efficacy towards soil-borne and air-borne fungi and their suppressive effect on tomato wilt severity. *Journal of Plant Pathology & Microbiology* 6: 325.
- Jain MK, Jain S, Banerjee S, 2015. Effect of combined application of *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* against wilt disease complex of chickpea caused by *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani*. *International Journal of Plant Protection* 8 (1): 21-25.
- Jemil N, Manresa A, Rabanal F, Ben-Ayed H, Hmidet N, *et al.*, 2017. Structural characterization and identification of cyclic lipopeptides produced by *Bacillus methylotrophicus* DCS1 strain. *Journal of Chromatography B* 1060: 374-386.
- Jinger D, Devi MT, Dhar Sh, Dass A, Rajanna GA, *et al.*, 2017. Silicon in mitigating biotic stresses in rice (*Oryza sativa* L.) - a review. *Annals of Agricultural Research, New Series* 38(1):1-14.
- Kandoliya UK, Marviya GV, Rathod PJ, Vakharia DN, Golakiya BA, 2017. Pathogenesis related hydrolytic enzymes induction in response to PGPR seed priming against wilt pathogen (*Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri*) in chickpea. *Indian Journal of Agricultural Biochemistry* 30 (2): 182-188.
- Krol P, Igielski R, Pollmann S, Kepczynska E, 2015. Priming of seeds with methyl jasmonate induced resistance to hemibiotroph *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in tomato via 12-oxo-phytodienoic acid, salicylic acid, and flavonol accumulation. *Journal of Plant Physiology* 179: 122-132.
- Li P, Ding W, Liu Q, Wang D, Wang R, *et al.*, 2016a. Mechanism of silicon and BTH-induced resistance to tobacco bacterial wilt. *Tobacco Science & Technology* 49 (7): 23-30.
- Li X, Zhang Y, Wei Z, Guan Z, Cai Y, *et al.*, 2016b. Antifungal activity of isolated *Bacillus amyloliquefaciens* SYBC H47 for the biocontrol of Peach gummosis. *Plos One* 11:1-22.
- Liang YC, Chen, Q, Liu Q, Zhang WH, Ding RX, 2003. Exogenous silicon (Si) increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in roots of salt stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Physiology* 160: 1157-1164.
- Mahesh HM, Murali M, Chandra Pal MA, Melvin P, Sharada MS, 2017. Salicylic acid seed priming instigates defense mechanism by inducing PR-Proteins in *Solanum melongena* L. upon infection with *Verticillium dahliae* Kleb. *Plant Physiology and Biochemistry* 117: 12-23.
- Omar SA, Salem DE, Rizk MA, 1988. Sources of resistance to root-rot wilt disease complex of lentil. *Lens Newsletter* 15(1): 37-39.
- Pakmehr A, Shekari F, Rastgoo M, 2014. Effect of seed priming by salicylic acid on some photosynthetic traits of cowpea under dehydration stress at flowering stage. *Iranian Journal of Pulses Research* 5(2): 19-30. (in Persian with English abstract).
- Pandey RN, Gohel NM, Jaisani P, 2017. Management of wilt and root rot of chickpea caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* and *Macrophomina phaseolina* through seed biopriming and soil application of bio-agents. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6(5): 2516-2522.
- Parsa N, Viani A, Arzanlou M, Aliasgharzad N, 2018. Evaluation of tomato cultivars for resistance to *Fusarium* wilt disease and influence of mycorrhizal fungus *Glomus versiforme*, antagonistic bacterium *Bacillus methylotrophicus* and carbendazim fungicide on disease control. MSc thesis in plant pathology, Faculty of agriculture, University of Tabriz, Iran (in Persian with English abstract).
- Pouralibaba HR, Rubiales D, Fondevilla S, 2015. Identification of resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* in Spanish lentil germplasm. *European Journal of Plant Pathology* 143(2): 399-405.
- Pouralibaba, HR, Sabbagh Pour SH, Mehraban A, Asghari S, 2008. Selection of new lines of *Fusarium* wilt resistant lentils by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* for for Bilehsavar Region, Moghan. *Journal of Seedlings and Seeds* 24(3): 429-444 (in Persian with English abstract).
- Qi PF, Johnston A, Balcerzak M, Rocheleau H, Harris LJ, *et al.*, 2012. Effect of salicylic acid on *Fusarium graminearum*, the major causal agent of fusarium head blight in wheat. *Fungal Biology* 116: 413-426.
- Rahman A, Wallis CM, Uddin W, 2015. Silicon-induced systemic defense responses in perennial ryegrass against infection by *Magnaporthe oryzae*. *Phytopathology* 105: 748-757.
- Reignault P, Walters D, 2007. Topical application of inducers for disease control. In: Walters D, Newton A, Lyon G (eds). *Induced Resistance for Plant Defense: A Sustainable Approach to Crop Protection*. Blackwell Publishing, Ames, IA. Pp. 179-200.
- Remus-Borel W, Menzies JG, Belanger RR, 2005. Silicon induces antifungal compounds in powdery mildew-infected wheat. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 66: 108-115.
- Saad ASA, Kadous EA, Tayeb EH, Massoud MA, Ahmed SM, *et al.*, 2014. The inhibitory effect of some antioxidants and fungicides on the growth of *Alternaria solani* and *Fusarium solani* in vitro. *Middle East Journal of Agriculture Research* 3(2): 123-134.
- Sabbagh SK, Sabbagh E, Abkho J, Zinati Fakhrabadi F, 2016. The effect of salicylic acid to induce systemic resistance in cucumber plant to damping-off disease caused by *Pythium aphanidermatum*. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 5 (2): 27-43 (in Persian with English abstract).
- Sabbaghpour, H. 2014. Strategic Framework for Food Legume Research. *Agricultural Research, Extension and Education Organization, Iran* 417 pp.
- Safari E, Sharifi R, Abbassi S, 2020. Inhibition of wheat take-all disease using defenses-inducing compounds. *Journal of*

- Applied Research in Plant Protection* 9(3): 1–10 (in Persian with English abstract).
- Safari Z, 2018. The response of different potato varieties to *Alternaria alternata* the causal agent of early blight disease and the effect of some resistance inducing materials on its control. MSc thesis in plant pathology, Faculty of agriculture, University of Tabriz, Iran (in Persian with English abstract).
- Skidmore AM, Dickinson CH, 1976. Colony interactions and hyphal interference between *Septoria nodorum* and phylloplane fungi. *Transactions of the British Mycological Society* 66(1): 57–64.
- Song W, Ma X, Tan H, Zhou J, 2011. Absciscic acid enhances resistance to *Alternaria solani* in tomato seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry* 49: 693–700.
- Stein E, Molitor A, Kogel KH, Waller F, 2008. Systemic resistance in *Arabidopsis* conferred by the mycorrhizal fungus *piriformosporandica* requires jasmonic acid signaling and the cytoplasmic function of NPR1. *Plant Cell Physiology* 49: 1747–1751.
- Strout G, Russell SD, Pulsifer DP, Erten S, Lakhtakia A, *et al.*, 2013. Silica nanoparticles aid in structural leaf coloration in the Malaysian tropical rainforest understorey herb *Mapania caudata*. *Annals of Botany* 112(6):1141–1148.
- Sun CW, Liang YC, Romheld V, 2005. Effects of foliar and root applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in *cucumis sativus*. *Journal of Plant Pathology* 54: 678–685.
- Tavakol Norabadi M, Sahebani N, Etebarian HR, 2014. Management of tomato wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* using a combination of silicon and *Pseudomonas fluorescens* (CHAO) and investigation of PAL (phenylalanine ammonialyase) enzyme activity. *Journal of Plant Disease Research* 2(3): 13–26 (in Persian with English abstract).
- Taylor P, Lindbeck K, Chen W, Ford R, 2006. Lentil Diseases. In: Yadav SS, *et al.* (eds). *Lentil: An Ancient Crop for Modern Times*, Springer, Pp. 291–313.
- Thaware, DS, Kohire OD, Gholve VM, 2016. In vitro efficacy of fungal and bacterial antagonists against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* causing chickpea wilt. *International Journal of Agricultural Science* 12 (2): 215–218.
- Veladi S, Soleimani Pari MJ, Khodakarmian Gh, Ghiyas Vand T, 2013. The effect of salicylic acid and chitosan on induction of resistance in chickpea against *Fusarium* wilt disease. *Plant Diseases* 49(2): 181–199.
- Viani A, Joorabbaf P, Aliasgharzad N, 2021. Control of potato soft rot disease using silicon, silicon nanoparticles and antagonistic bacterium *Bacillus methylotrophicus* at glasshouse conditions. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 10 (1): 83–96 (in Persian with English abstract).
- Yousefi H, Sahibani N, Product L, Mahdavi V, 2011. Combination of salicylic acid and *Bacillus subtilis* in the control of stem and root rot of cucumber caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* and evaluation of phenylalanine ammonialyase activity. *Iranian Journal of Plant Protection Science* 42(2): 339–351 (in Persian with English abstract).
- Zarei I, Mohammadi G, Sohrabi Y, Kahrizi D, Khah EM, *et al.*, 2011. Effect of different hydropriming times on the quantitative and qualitative characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *African Journal of Biotechnology* 10 (66): 14844–14850.



This is an open access article under the CC BY NC license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/>)