Iranian Journal of Plant Pathology, Volume 60, Issue 3. Pages 265-281

Rhodotorula toruloides: A novel and efficient biological control agent for *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* in cucumber

1. Jafar Mohammadi: Former M.Sc. Student, of Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
2. Masoud Abrinbana*: Associate professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
3. Lachin Mokhtarnejad*: Department of Biological Control, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
4. Siyanak Hanifeh: Forest and Rangelands Department, West Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research Center, AREEO, Urmia, Iran

*Corresponding Authors' Email Address: L.mokhtarnejad@gmail.com; abrinbana@gmail.com

Article Type:
Original Research

Received: 29 June 2025
Revised: date: 20 September 2025
Accepted: 24 September 2025

How to Cite: Mohammadi, J., Abrinbana, M., Mokhtarnejad, L., & Hanifeh, S. (2024). *Rhodotorula toruloides*: A novel and efficient biological control agent for *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* in cucumber. *Iranian Journal od Plant Pathology,* 60(3), 265-281.

DOI: 10.22034/IJPP.2025.2021856.488

© 2024 the authors. Published by Maher Publishing Institute. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) License.

Abstract:

Fusarium Wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum* is one of the most important diseases of cucumber in fields and greenhouses worldwide. The use of antagonists, including yeasts, has been proposed as a safe method to control this disease. This study investigated the biocontrol potential of 16 yeast isolates obtained from the cucumber phyllosphere and rhizosphere against the pathogenic fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. In evaluating the biocontrol potential of the isolates against the pathogenic fungus, isolates J1 *Rhodotorula. toruloides*, J5 *Moesziomyces aphidis*, and J7 *Metschnikowia sinensis* showed the highest inhibition of fungal mycelial growth. Based on dual culture experiments and the production of antifungal volatile compounds, two isolates (J1 *R. toruloides* and J7 *Me. Sinensis*) were selected for evaluating disease control under greenhouse conditions. In greenhouse experiments, isolates J7 and especially J1 significantly reduced the disease index of cucumber Fusarium wilt, with disease control efficacy of approximately 89.79% for J1 and 87.29% for J7. Possible biocontrol mechanisms, including biofilm formation, siderophore production, and secretion of extracellular enzymes, were investigated in all isolates. Some isolates exhibited the ability to produce these enzymes and compounds. Isolates J1 *Rh. toruloides*, J5 *Mo. aphidis*, and J7 *Me. sinensis* demonstrated siderophore production and biofilm formation capabilities, suggesting that these traits—particularly siderophore production—play a key role in inhibiting the growth of *F. oxysporum* f. sp. Overall, the results of this study indicated that isolate J1 has high potential as a biocontrol agent for managing Fusarium wilt disease in cucumbers.

Keywords: Biological control, Fusarium wilt, Yeast

Extended Abstract

Introduction

Cucumber (Cucumis sativus L.) is one of the most important vegetables globally and is widely cultivated worldwide (Arab-Salmani & Hakimi, 2024). Fusarium wilt of cucumber caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *radices-cucumerinum* has become a major limiting factor in the continuous cropping system of cucumbers (Koike et al., 2007). Fusarium wilt is now considered one of the most important and destructive diseases effecting cucumbers in growing regions worldwide and severely impair their yield and quality (Gordon, 2017; Koike et al., 2007). Conventional methods of controlling Fusarium wilt in cucumbers, including fungicides, rotation, and resistant cultivars, have a long history of use but face challenges due to environmental damage and high costs. Today, biological control is being proposed as a suitable and low-risk alternative method for protecting crops against Fusarium wilt (Wang et al., 2023). Some yeasts, such as those from genera *Metschnikowia* and *Naganishia,* have been used as biocontrol agents against *F. oxysporum* in plants. Studies have shown these yeasts can inhibit the growth of this pathogen by producing antifungal compounds (Kowalska et al., 2022). Using these beneficial yeasts as an alternative to chemical fungicides is a way to reduce the environmental impacts of chemical fungicides and increase profitability by decreeing crop losses (Kaur et al., 2022).

The main objective of this investigation is to 1) study the antagonistic activity of some yeast strains isolated from the rhizosphere and phyllosphere of cucumber plants against *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, both in vitro and in vivo, and 2) investigate potential mechanisms associated with biocontrol activity.

Material and methods

Sixteen yeast isolates were obtained from the West Azerbaijan agriculture research center ((Mohammadi & Abrin Bana, 1403). Pathogen used in this study was obtained from the fungal collection of the Iranian Research Institute of Plant Protection. Primary Screening for Antagonistic potential of all 16 yeast isolates against *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* was evaluated in vitro using dual-culture method and the production of antifungal volatile compounds using the mouth-to-mouth assay (Etebarian et al., 2005). Possible biocontrol mechanisms, including biofilm formation, siderophore production, and secretion of extracellular enzymes, were investigated in all isolates. Extracellular enzyme production was studied by examining the production of clear zones around the yeast on different agar media supplemented with the yeast isolates (Buzzini & Martini, 2002; Pretscher et al., 2018; Ruzicka et al., 2007; Strauss et al., 2001). Yeasts with the highest inhibitory effect against *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* in in vitro assays were selected for evaluating disease control under greenhouse conditions (Zhai et al., 2021).

Results

The results of the dual culture experiment showed that yeast isolates had varying inhibitory effects on the growth of *F. oxysporum* f. sp. *Cucumerinum.* The highest inhibition rates of 60.42%, 56.25% and 41.45% were observed in the *Metschnikowia s Sinensis* J7, *Rhodotorula toruloides* J1and *Moesziomyces. Aphidis* J5 yeast isolates, respectively. Based on the results of the antifungal effect of VOCs produced by yeast isolates, most of the yeast isolates showed weak activity in producing inhibitory volatile metabolites against the growth of *F. oxysporum* f. sp. *Cucumerinum*. Compared with the control, a reduction of 51.11% in the rate of colony growth of the pathogen was observed in the presence of volatiles produced by *Naganishia adeliensis* J11.The yeast isolates presented different capabilities in producing extracellular enzymes. Based on the results nine isolates (*R. toruloides* (J1), *Vishniacozyma* sp. (J3), *Vishniacozyma tephrensis* (J4, J15, J19), *Naganishia* sp. (J9), *Metschnikowia pulcherrima* (J10), *N. adeliensis* (J11), and *V. carnescens* (J13)) were able to produce esterase. Among the 16 isolates examined, only two isolates, J9 and J10, belonging to *Naganishima* sp. and *M. pulcherrima*, respectively, produced the protease enzyme. Isolates J2 of *K.*

hebeiensis, isolate J9 of *Naganishima sp*., isolate J10 of *M. pulcherrima*, and isolate J1 of *R. toruloides* were able to produce amylase. Additionally, a total of two isolates J9 and J10 belonging to the species *Naganishima* sp. and *M. pulcherrima*, respectively were able to produce pectinase. In the evaluation of siderophore production using CAS media, the formation of orange halos around the colonies of strains J1 (*R. toruloides*), J5 and J7 was observed. Biofilm formation was observed in six isolates including *R. toruloides* (J1), *Vishniacozyma* sp. (J3), *Mo. aphidis* (J5), *Me. sinensis* (J7, J8), and *N. adeliensis* (J11). In the greenhouse pot experiment, two yeast isolates were evaluated for their potential biological control ability. Both of isolates significantly ($P < 0.05$) reduced the severity of Fusarium wilt. The highest disease incidence (83.96%) occurred in the control treatment. The application of strains *R. toruloides* J1, and *Me. Sinensis* J7 significantly decreased the disease incidence by 79.89% and 29.87%, respectively, compared to the control treatment.

Discussion

In this study, two yeast isolates *R. toruloides* J1, and *Me. Sinensis* J7 isolated from the cucumber phylosphere showed highest antagonistic activity against *F. oxysporum* f. sp. *Cucumerinum.* Understanding the mechanisms involved in biocontrol activity is essential for the successful development and application of yeasts as plant protection agents (Spadaro & Droby, 2016). The production of siderophores by strains J1 and J7 may play an important role in promoting plant growth. According to current reports, these compounds cause resistance in plants, ultimately leading to increased resistance against plant pathogens (Maindad et al., 2014). The ability of strains J1 and J7 to form biofilm aligns with previous findings (Klein & Kupper, 2018; Zajc et al., 2020). In fact, biofilm production helps the antagonist attach, colonize, and grow on plant tissue, enhancing the antagonist's ability to absorb necessary nutrients (Yang et al., 2021).

This study demonstrates that the isolate *R. toruloides* J1 has significant potential as a biocontrol agent for managing of Fusarium wilt in cucumbers. However, further field studies are needed to explore the adaptability of this isolate to different environmental conditions.

Conflict of Interest

There is no conflict of interest in conducting the present study.

Ethical Considerations

All ethical principles and standards were fully observed in the conduct of this research.

Acknowledgments

This research is part of the first author's master's thesis. The authors would like to thank the West Azerbaijan Province Agricultural and Natural Resources Research and Education Center and its pathology laboratory for their support.

Rhodotorula toruloides: یک عامل کنترل بیولوژیک جدید و موثر برای کنترل Fusarium oxysporum f. sp. cucumerinum در خیار

۱. جعفر محمدی: دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۲. مسعود ابرین‌بنا: دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۳. لاچین مختارنژاد*: بخش کنترل بیولوژیک، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
۴. سیامک حنیفه: بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی آذربایجان غربی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه، ایران

*پست الکترونیک نویسنده مسئول: sl.mokhtarnejad@gmail.com

نوع مقاله:
پژوهشی اصیل

تاریخ دریافت: ۸ تیر ۱۴۰۴
تاریخ بازنگری: ۲۹ شهریور ۱۴۰۴
تاریخ پذیرش: ۲ مهر ۱۴۰۴

نحوه استناددهی: محمدی، جعفر.، ابرین‌بنا، مسعود.، مختارنژاد، لاچین.، و حنیفه، سیامک. (۱۴۰۳). Rhodotorula toruloides: یک عامل کنترل بیولوژیک جدید و موثر برای کنترل Fusarium oxysporum f. sp. cucumerinum در خیار. *بیماری‌های گیاهی*، ۶۰(۳)، ۲۸۱-۲۶۵.
DOI: 10.22034/IJPP.2025.2021856.488

مجوز و حق نشر: © ۱۴۰۳ تمامی حقوق انتشار این مقاله متعلق به نویسنده است. انتشار این مقاله توسط انتشارات ماهر به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با گواهی (CC BY 4.0) صورت گرفته است.

چکیده

پژمردگی فوزاریومی ناشی از *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* یکی از مهم‌ترین بیماری‌های خیار در مزارع و گلخانه‌های سراسر جهان است. استفاده از آنتاگونیست‌ها از جمله مخمرها، به عنوان یکی از روش‌های بی‌خطر برای مهار این بیماری مطرح شده است. در این مطالعه توانایی مهار زیستی ۱۶ جدایه مخمری جداسازی شده از فیلوسفر وریزوسفر خیار به منظور کنترل قارچ بیمارگر *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی توانایی مهار زیستی جدایه‌ها علیه قارچ بیمارگر ،جدایه‌های J1 *Rhodotorula toruloides*، J5 *Moesziomyces aphidis* و J7 *Metschnikowia. sinensis* بیشترین بازدارندگی از رشد میسلیوم قارچ را نشان دادند. بر اساس آزمایشات کشت متقابل و تولید ترکیبات فرار ضد قارچی دو جدایه J1 *R. toruloides* و J7 *Me. sinensis* برای ارزیابی کنترل بیماری در شرایط گلخانه انتخاب شدند. در آزمایش‌های گلخانه‌ای، هر دو جدایه مورد آزمون در گلخانه موجب کاهش معنی‌دار بیماری در مقایسه با شاهد آلوده شدند. جدایه‌های J7 و J1 به ترتیب موجب کاهش ۲۹/۸۷ و ۷۹/۸۹ درصدی شدت بیماری شدند. بررسی مکانیسم‌های احتمالی مهار زیستی شامل تشکیل بیوفیلم، تولید سیدروفور و ترشح آنزیم‌های خارج سلولی نشان داد جدایه‌های J1 *R. toruloides*، J5 *Mo. aphidis* و J7 *Me. sinensis* توانایی تولید سیدروفور و تشکیل بیوفیلم را دارند و به نظر می‌رسد این توانایی‌ها به‌خصوص تولید سیدروفور، نقش مهمی در مهار رشد *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* ایفا می‌کنند. به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد جدایه J1 به عنوان عامل مهار زیستی پتانسیل بالایی برای مدیریت بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار دارد.

کلیدواژگان: *مخمر، کنترل بیولوژیک، پژمردگی فوزاریومی*

مقدمه

خیار با نام علمی (*Cucumis sativus* L) گیاهی از خانواده کدوئیان می‌باشد و یکی از مهم‌ترین سبزی‌های میوه‌ای دنیا به شمار می‌رود. خیار محصول فصل گرم است و در مناطق معتدل و همچنین در فصل زمستان در شرایط گلخانه‌ای کشت می‌شود (Arab-Salmani & Hakimi, 2024).

گونه *Fusarium oxysporum* یکی از مهم‌ترین قارچ‌های بیماری‌زای خاکزاد است که فرم‌های مخصوص آن، بیماری‌هایی موسوم به پژمردگی آوندی را در گیاهان مختلف از جمله خیار ایجاد می‌کنند. دو فرم مخصوص *F. oxysporum f. sp. cucumerinum* و *F. oxysporum f. sp. radices-cucumerinum* از روی خیار گزارش شده‌اند که گونه اول پژمردگی آوندی و گونه دوم پوسیدگی ریشه و طوقه را ایجاد می‌کنند (Koike et al., ۲۰۰۷).

پژمردگی آوندی امروزه به‌عنوان یکی از مهم‌ترین و مخرب‌ترین بیماری‌های خیار در اغلب مناطق کشت این محصول در جهان به شمار می‌رود و خسارت قابل‌توجهی را به این محصول وارد می‌کند (Gordon, 2017; Koike et al., 2007).

روش‌های متداول مهار پژمردگی فوزاریوم خیار، از جمله قارچ‌کش‌ها، تناوب زراعی و ارقام مقاوم، با وجود سابقه طولانی در کاربرد، به دلیل آسیب‌های زیست‌محیطی و هزینه‌های بالا ، با چالش‌های جدی مواجه هستند. امروزه مهار زیستی به‌عنوان یک روش جایگزین مناسب و کم خطر برای حفاظت از محصول در برابر پژمردگی فوزاریومی مطرح شده است (Koike et al., ۲۰۰۷; Raza et al., ۲۰۱۷; Wang et al., ۲۰۲۳). نتایج تحقیقات نشان داده است که بعضی از مخمرها ترکیباتی تولید می‌کنند که از رشد *F. oxysporum* جلوگیری می‌کنند و همچنین، با احاطه کردن ریشه گیاهان، از آن‌ها در برابر آلودگی محافظت می‌کنند (Bolivar-Anillo et al., ۲۰۲۱) بر همین اساس، برخی از مخمرها به عنوان عوامل مهار زیستی علیه *F. oxysporum* در گیاهان مورد استفاده قرار گرفته‌اند. برخی از مطالعات نشان داده‌اند که مخمرهایی از جنس *Metschnikowia* و *Naganishia* می‌توانند با تولید ترکیبات ضد قارچی از رشد این بیمارگر جلوگیری کنند (Kowalska et al., ۲۰۲۲).

مانند سایر میکروارگانیسم‌ها، مخمرهایی که برای مهار زیستی استفاده می‌شوند باید از نظر اثربخشی و مناسب بودن برای شرایط رشد و آب و هوای خاص انتخاب شوند و با سایر روش‌های مدیریت آفات نیز سازگار باشند. استفاده از این مخمرهای مفید به‌عنوان جایگزین قارچ کش‌های شیمیایی، راهی برای کاهش اثرات زیست محیطی قارچ کش‌های شیمیایی بوده و از طریق کاهش تلفات محصول، سبب افزایش سودآوری آن می‌شود (Kaur et al., 2022).

این مطالعه با هدف بررسی امکان استفاده از جدایه‌های مخمری جداسازی شده از اندام‌های هوایی و زیرزمینی بوته‌های خیار در مهار زیستی بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار در شرایط گلخانه‌ای صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه جدایه‌های مخمر

تعداد ۱۶ جدایه مخمر جداسازی شده از فیلوسفر و ریزوسفر خیار (Mohammadi & Abrin Bana, 1403) از کلکسیون مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی استان آذربایجان غربی تهیه گردید که مشخصات آن‌ها در جدول ۱ قابل مشاهده است. شناسایی جدایه‌های مخمری مورد استفاده در این بررسی با توالی‌یابی ناحیه D1/D2 صورت گرفته است (Mohammadi & Abrin Bana, 1403).

جدول ۱ .جدایه‌های مخمری استفاده شده در این پژوهش

Table 1. Yeast isolates used in this study

جدایه	گونه
J2	*Kalmanozyma hebeiensis*
J10	*Metschnikowia pulcherrima*
J6, J7, J8	*Metschnikowia sinensis*
J5	*Moesziomyces aphidis*
J11, J12, J14	*adeliensis Naganishia*
J9	*Naganishia* sp.
J1	*Rhodotorula toruloides*
J13	*Vishniacozyma carnescens*
J4, J15, J16	*Vishniacozyma tephrensis*
J3	*Vishniacozyma* sp.

تهیه قارچ بیمارگر

جدایه بیمارگر *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* از کلکسیون قارچ‌های زنده مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور تهیه شد. جدایه‌ی دریافت شده در محیط کشت PDA کشت و تکثیر شد و آزمون بیماری‌زایی در محیط گلخانه بر اساس اصول کخ انجام شد.

ارزیابی و غربالگری توانایی مهار زیستی جدایه‌های مخمر در شرایط درون‌شیشه‌ای

آزمون کشت متقابل

فعالیت مهار زیستی جدایه‌های مخمر در شرایط آزمایشگاهی در برابر *F. oxysporum* f. sp. *Cucumerinum* توسط روش کشت متقابل ارزیابی گردید. برای انجام تست کشت متقبل، پتری‌دیش به دو قسمت مساوی تقسیم شد و در یک طرف جدایه مخمری به صورت مخطط کشت شد و در سمت دیگر به فاصله یک سانتیمتر از حاشیه پتری‌دیش یک پلاگ قارچی قرار داده شد. در تیمار شاهد فقط قارچ بیمارگر کشت شد. تشتک‌های پتری به مدت ۱۴ روز در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی نگهداری شدند. پس از اینکه در تیمار شاهد قارچ بیمارگر به خط وسط تشتک پتری رسید، میزان رشد شعاعی جدایه‌ی قارچ بیمارگر در تیمارهای مختلف اندازه‌گیری شد. در نهایت درصد کاهش رشد میسلیوم قارچ بیمارگر با استفاده از فرمول $n = (a - b)/a \times 100$ محاسبه گردید که در آن n درصد بازدانگی از رشد عامل بیماری، a= شعاع کلنی عامل بیماری در تشتک پتری شاهد و b= شعاع کلنی عامل بیماری در تشتک پتری حاوی تیمار مخمر در نظر گرفته شد (Etebarian et al., ۲۰۰۵).

آزمون تولید ترکیبات فرار ضد قارچی

به منظور بررسی قابلیت تولید ترکیبات فرار ضد قارچی توسط جدایه‌های مخمری، از محیط پایه PDA استفاده شد. مخمر در یک تشتک پتری، به صورت خطی کشت شد و در مرکز یک تشتک پتری دیگر، یک حلقه پنج میلی‌متری حاوی میسلیوم *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* قرار داده شد. تشتک‌های پتری روبروی هم قرار گرفتند و به وسیله پارافیلم به طور کامل پوشانده شدند. در تیمار شاهد، در تشتک روبروی تشتک حاوی قارچ بیمارگر، چیزی کشت نشد. تشتک‌ها به مدت ۱۴ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در شرایط تاریکی نگهداری شدند. پس از این مدت، شعاع کلنی قارچ بیمارگر در هر تیمار مخمر با شعاع کلنی قارچ در تیمار شاهد اندازه‌گیری و مقایسه شد. درصد کاهش رشد میسلیوم قارچ با استفاده از فرمول $n = (a - b)/a \times 100$ محاسبه گردید که در آن n= درصد بازدانگی از رشد عامل بیماری، a = شعاع کلنی عامل بیماری در تشتک پتری شاهد و b= شعاع کلنی‌عامل بیماری درتشتک پتری تیمار بود (Etebarian et al., ۲۰۰۵).

مکانیسم‌های احتمالی مؤثر در قابلیت مهار زیستی

تولید آنزیم‌های خارج سلولی

توانایی تولید آنزیم‌های پروتئاز، پکتیناز، آمیلاز و استراز ۱۶ جدایه مخمری با قرار دادن سوسپانسیون مخمر (10^7 سلول در میلی‌لیتر) به مقدار سه میکرولیتر روی محیط جامد حاوی سوبستراهای آنزیمی خاص بررسی شد.

برای بررسی فعالیت آنزیم پروتئاز از محیط کشت[1] SM استفاده شد. تشکیل هاله روشن در اطراف کلنی مخمر پس از نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت پنج روز، نشان دهنده فعالیت آنزیمی می‌باشد (Strauss et al., 2001).

فعالیت آمیلازی با کاربرد یک محیط انتخابی شامل ۱۰ گرم در لیتر عصاره مخمر، ۲۰گرم در لیتر پپتون، ۲۰ گرم در لیتر نشاسته و ۲۰ گرم در لیتر آگار ارزیابی گردید. pH محیط روی شش تنظیم و پس از یک هفته، با استفاده ازمحلول ید آبی یا ید لوگول[2] تشکیل هاله روشن در اطراف کلنی مخمر نشان‌دهنده تولید آنزیم آمیلاز و تجزیه نشاسته توسط مخمر بود (Pretscher et al., 2018).

فعالیت پکتینولیتیک با استفاده از یک محیط کشت انتخابی حاوی شش وهفت دهم گرم در لیتر YNB[3] (پایه نیتروژن مخمر)، ۱۰گرم پکتین و ۲۰ گرم در لیتر آگار مورد آزمایش قرار گرفت. پس از نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت پنج روز و استفاده از محلول ید آبی، تشکیل هاله روشن در اطراف کلنی مخمر نشان‌دهنده تولید آنزیم پکتیناز و تجزیه پکتین توسط مخمر بود (Strauss et al., ۲۰۰۱).

برای بررسی فعالیت استرازی از محیط کشت حاوی یک درصد پپتون، نیم درصد کلرید سدیم، یک صدم در صد کلرید کلسیم، یک درصد توئین ۸۰ و دو درصد آگار استفاده شد. تشکیل هاله کدر اطراف کلنی مخمر نشان دهنده تولید آنزیم استراز بود (Buzzini & Martini, ۲۰۰۲).

تشکیل بیوفیلم

توانایی تشکیل بیوفیلم بر اساس آزمون چسبندگی توصیف شده توسط روزیکا و همکاران (Ruzicka et al., 2007) ارزیابی شد. روش کار به طور خلاصه بدین صورت بود که از کشت دو روزه مخمر، سوسپانسیونی با غلظت ۱×۱۰^۸ **سلول زنده در میلی‌لیتر** تهیه شد. سپس ۱۸۰ میکرولیتر آب سیب سترون داخل چاهک‌های پلیت ۹۶ تایی ریخته شد و با ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون مخمر تلقیح و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری گردید. آب سیب سترون تلقیح نشده به عنوان شاهد مورد استفاده قرار گرفت. بعد از پایان دوره نگهداری، چاهک‌ها خالی شدند و پس از شستشو با آب مقطر سترون، در دمای اتاق خشک شدند. لایه‌های بیوفیلم تشکیل شده با محلول کریستال ویوله یک درصد درصد وزنی–حجمی) به مدت ۲۰ دقیقه رنگ‌آمیزی شدند و پس از شستشو با آب مقطر، در دمای اتاق قرار گرفتند تا خشک شوند. میزان رنگ تثبیت شده در هر چاهک با ۲۰۰ میکرولیتر اتانول ۹۵ ٪ شسته شد. میزان جذب نوری اتانول هر چاهک با دستگاه پاورویو میکروپلیت اسپکتروفتومتر۴ مدل ایکس اس ۲ (ساخت شرکت Bio-Tek، آمریکا) در طول موج ۶۲۰ نانومتر ارزیابی گردید. در این آزمون، هر جدایه مخمر با سه تکرار (در سه چاهک مجزا) تلقیح گردید. هر چاهکی که میزان جذب نوری (O.D.) آن برابر یا بالاتر از ۱ بود، به عنوان مثبت ثبت گردید (Ruzicka et al., ۲۰۰۷).

تولید سیدروفور

برای بررسی قابلیت تولید سیدروفور، از محیط کشت کروم آزارول سولفات آگار (CAS) استفاده شد (Schwyn & Neilands, 1987). مخمرها بر روی محیط کشت شدند و به مدت پنج روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. ارزیابی تولید سیدروفور به صورت کیفی و با تغییر رنگ محیط از آبی به نارنجی مشخص گردید (Baakza et al., 2004).

[1] Skim milk
[2] Aqueous iodine or lugol's iodine
[3] Yeast nitrogen base
[4] PowerWave XS2 Microplate Spectrophotometer

بررسی توانایی جدایه‌های مخمری منتخب در مهار قارچ بیمارگر در شرایط گلخانه

دو جدایه مخمری که در شرایط درون شیشه‌ای (کشت متقابل) قابلیت آنتاگونیستی قابل توجهی علیه جدایه *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* نشان داده بودند، به منظور ارزیابی قابلیت مهار بیماری در شرایط گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. بذور خیار رقم Roller که به مدت یک دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد ضدعفونی شده بودند، و یک بذر درگلدان‌های حاوی خاک، ماسه، کود برگی، پیت ماس و پرلیت(به ترتیب به نسبت ۴، ۱، ۱، ۱، ۱) سترون کاشته شدند. در هر گلدان گیاهچه‌ها در مرحله سه برگی ابتدا توسط سوسپانسیون اسپور جدایه‌های مخمری برتر با غلظت 10^9 **سلول زنده در میلی‌لیتر** و به روش خیساندن خاک و ۲۴ ساعت بعد، توسط سوسپانسیون اسپور *F. oxysporum f. sp. cucumerinum* غلظت 10^5 اسپور در میلی لیتر مایه‌زنی شدند. تیمار شاهد آلوده فقط با سوسپانسیون اسپور بیمارگر و تیمار شاهد سالم با آب مقطر سترون مایه‌زنی گردید. گیاهچه‌ها به مدت ۴۵ روز در گلخانه با شرایط ۱۶ ساعت نور و هشت ساعت تاریکی در دمای ۲۶-۲۸ درجه سلسیوس نگهداری شدند و سپس شاخص بیماری در تیمارهای مختلف با استفاده از مقیاس توصیف شده توسط زای و همکاران (Zhai et al., 2021) مورد ارزیابی قرار گرفت که در آن ۰ = گیاه سالم، ۱ = پژمردگی جزئی در برگ‌ها، ۲ = پژمردگی جزئی در برگ‌ها و ساقه‌ها همراه با لکه‌های نکروز در برگ‌ها، ۳ = پژمردگی در برگ‌ها و ساقه‌ها همراه با لکه‌های نکروز در برگ‌ها و ۴ = گیاه مرده بود. سپس با استفاده از مقیاس‌ها شاخص بیماری با استفاده از فرمول زیر (Zhai et al., 2021) محاسبه شد:

[∑(شاخص بیماری × تعداد گیاهان در این شاخص)/

(بیشترین شاخص بیماری × تعداد کل گیاهان بررسی شده)] × 100

در نهایت، کارآیی مهارزیستی با استفاده از فرمول زیر (Zhai et al., 2021) محاسبه شد:

کارآیی مهارزیستی = (شاخص بیماری در شاهد آلوده-شاخص بیماری در تیمار) / شاخص بیماری در شاهد آلوده

تجزیه‌های آماری

تجزیه واریانس درصد بازدارندگی از رشد میسلیوم (کشت متقابل و مواد فرار)، شاخص بیماری و کارآیی کنترل پس از تبدیل داده‌ها از طریق ریشه دوم تابع معکوس سینوس[1] با روش GLM[2] و در نرم‌افزار Minitab نسخه ۲۱ انجام گرفت. میانگین‌ها با روش توکی[3] در سطح آماری پنج درصد با همدیگر مقایسه شدند.

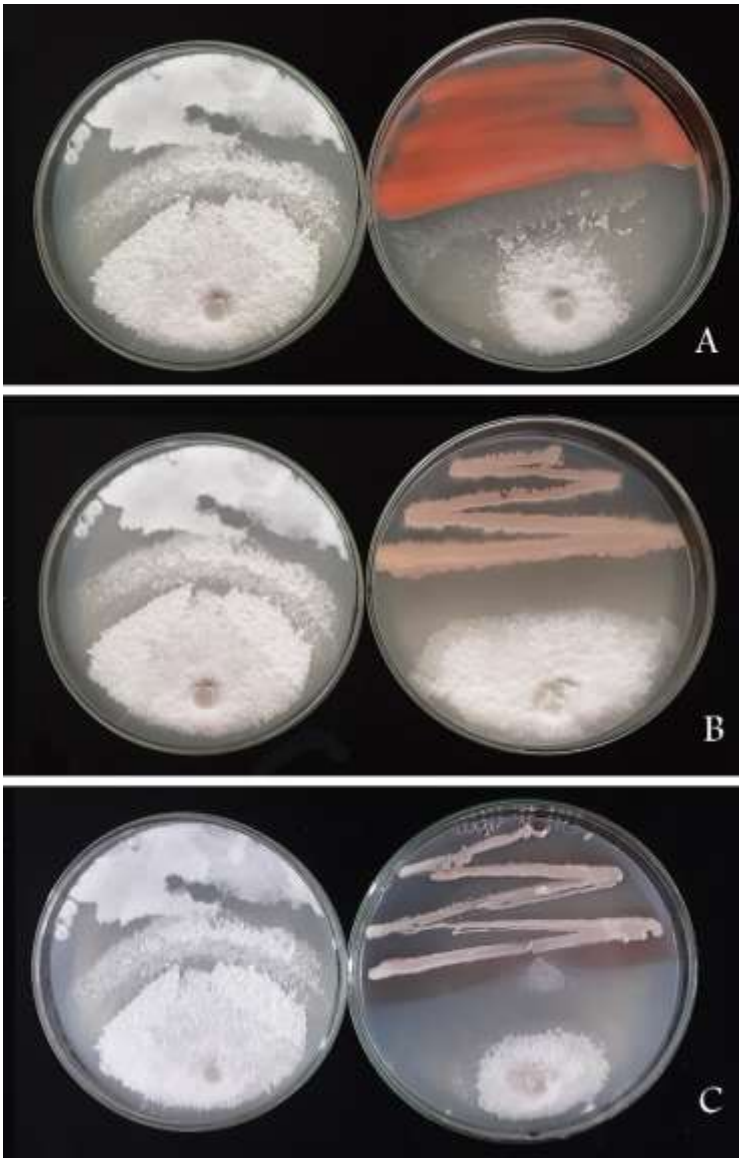
نتایج

توانایی مهار زیستی جدایه‌های مخمر در شرایط درون شیشه‌ای

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از کشت متقابل جدایه‌های مخمر با *F. oxysporum f. sp. cucumerinum* نشان داد که جدایه‌های مخمری اختلاف معنی‌داری در میزان مهارکنندگی رشد میسلیوم قارچ بیمارگر داشتند. مقایسه میانگین داده‌ها مشخص نمود که بیشترین درصد کاهش رشد میسلیومی *F. oxysporum f. sp. cucumerinum* مربوط به تیمار جدایه‌های *Me. Sinensis* J7 و *R. toruloides* J1 و *Mo. Aphidis* J5 به ترتیب با ۶۰/۴۲، ۵۶/۲۵ و ۴۱/۴۵ درصد بود که از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با همدیگر نداشتند (شکل ۱). درصد بازدارندگی سایر جدایه‌ها

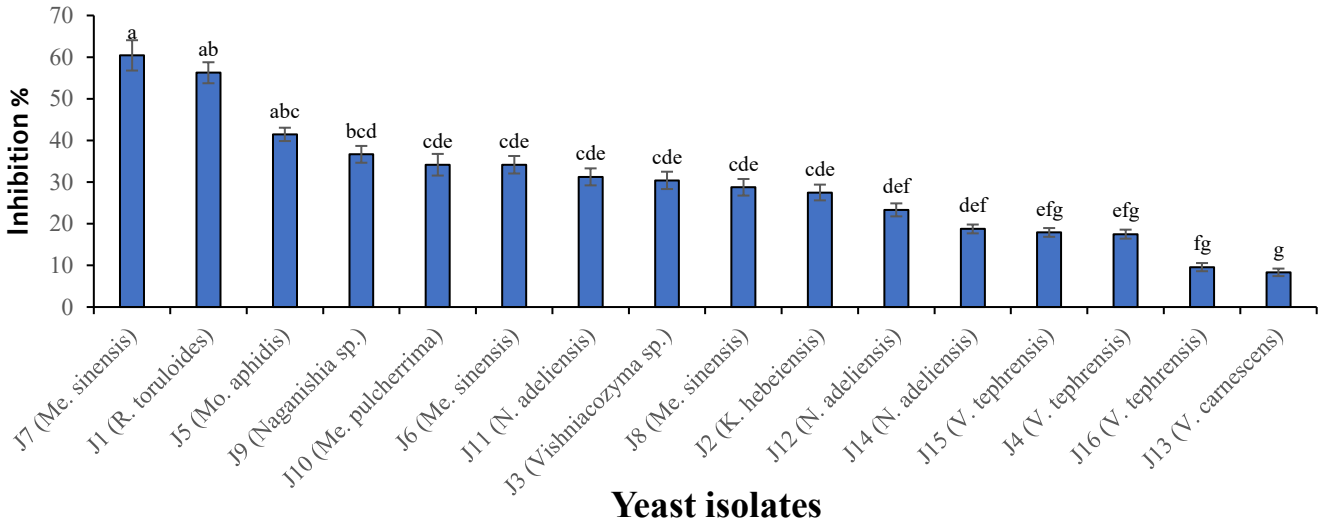
[1] Arcsine square root
[2] General linear model
[3] Tukey

کمتر بود و در گروه‌های مختلف آماری قرار گرفتند که در بین آن‌ها جدایه‌های *V. carnescens* (J13)، *V. tepherensis* (J16, J4, J15)، *N. adeliensis* (J2) و *K. hebeiensis* (J12) کمترین بازدارندگی از رشد میسلیوم بیمارگر را نشان دادند (شکل ۲).



شکل ۱. اثر مهارکنندگی A: J1 (*R. toruloides*)، B: J5 (*Mo. aphidis*) و C: J7 (*Me. sinensis*) بر رشد میسلیوم *F. oxysporum f. sp. cucumerinum* (تشتک‌های پتری سمت راست) در مقایسه با شاهد (تشتک‌های پتری سمت چپ) پس از ۱۴ روز نگهداری در دمای۲۵ درجه سلسیوس در شرایط تاریکی.

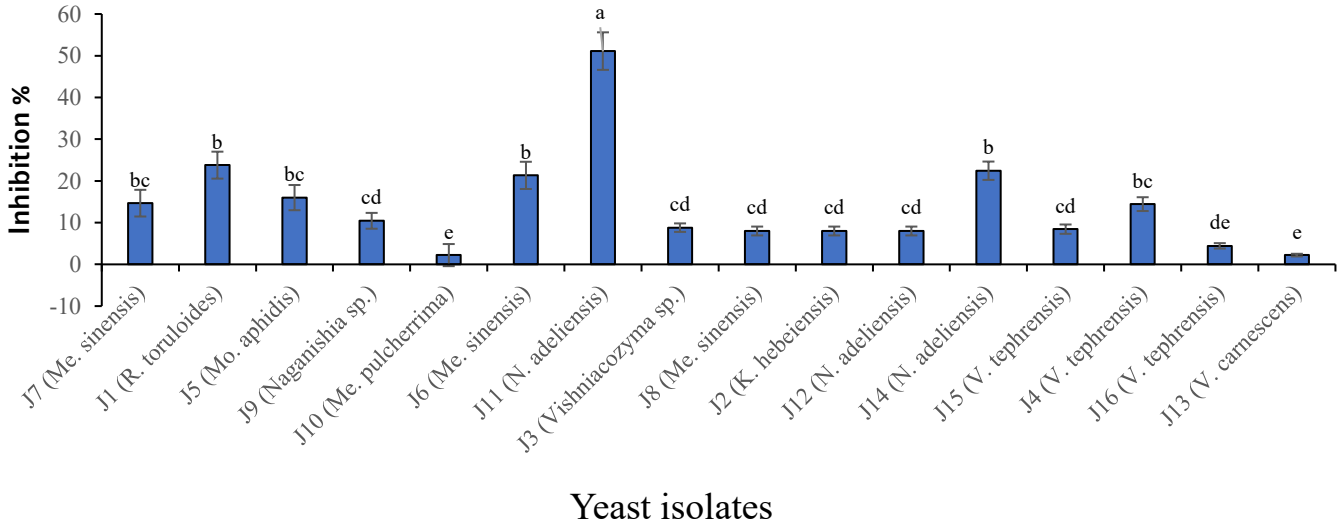
Figure 1. Inhibitory effect of isolates J1 (*R. toruloides*, A), J5 (*Mo. aphidis*, B) and J7 (*Me. sinensis*, C) on the growth of mycelium of *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* (right) compared to the control (left) after 14 days of storage at 25°C in the dark.



شکل ۲. نمودار درصد بازدارندگی ترکیبات غیر فرار جدایه‌های مخمری علیه *F. oxysporum* f. sp. *Cucumerinum* در کشت متقابل پس از ۱۴ روز

Figure 2. Graph of the percentage of inhibition of non-volatile compounds of yeast isolates against *F. oxysporum* f. sp. *Cucumerinum* in co-culture after 14 days

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مشخص شد که بین جدایه‌های مخمری از نظر تاثیر ترکیبات فرار مخمر در مهار رشد بیمارگر تفاوت معنی‌داری وجود دارد. در پایان ۱۴ روز نگهداری، جدایه *N. adeliensis* J11 با بازدارندگی ۵۱/۱۱ درصد از رشد میسلیوم بیمارگر بیشترین تاثیر را روی *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* از خود نشان داد و اختلاف معنی‌داری با سایر جدایه‌ها داشت. اثر سایر جدایه‌ها ناچیز بود و بین ۲ تا ۲۳ درصد بازدارندگی ایجاد کردند (شکل ۳).



شکل ۳ نمودار درصد بازدارندگی ترکیبات فرار جدایه‌های مخمری علیه *F. oxysporum* f. sp. *Cucumerinum* پس از ۱۴ روز

Figure 3 Graph of the percentage of inhibition of volatile compounds of yeast isolates against *F. oxysporum* f. sp. *Cucumerinum* after 14 days

مکانیسم‌های زیست‌مهاری

تولید آنزیم‌های خارج سلولی

پروفایل تولید آنزیم خارج سلولی در جدایه‌های مختلف مخمری در(جدول ۲) نشان داده شده‌اند. از مجموع ۱۶ جدایه مورد بررسی، هر سه جدایه متعلق به گونه *V. tephrensis*، جدایه J13 از گونه *V. carnescens*، جدایه J3 از *Vishnicozyma* sp.، جدایه J11 از گونه *N. adeliensis*، جدایه J9 از گونه *Naganishima* sp.، جدایه J10 از گونه *M. pulcherrima* و جدایه J1 از گونه *R. toruloides* قادر به تولید آنزیم استراز بودند.

از بین ۱۶ جدایه مورد بررسی فقط دو جدایه J9 و J10 که به ترتیب متعلق به *Naganishima* sp. و *M. pulcherrima* بودند، آنزیم پروتئاز تولید کردند.

از لحاظ فعالیت آمیلازی، جدایه‌های J2 مربوط به گونه *K. hebeiensis*، جدایه J9 از گونه *Naganishima* sp.، جدایه J10 از گونه *M. pulcherrima* و جدایه J1 از *R. toruloides* قادر به تولید و ترشح این آنزیم بودند همچنین در مجموع دو جدایه J9 و J10 به ترتیب مربوط به گونه‌های *Naganishima* sp. و *M. pulcherrima* نتیجه مثبت در تولید آنزیم پکتیناز از خود نشان دادند.

جدول۲. نتایج تست‌های آنزیمی، تولید سیدروفور و بیوفیلم جدایه‌های مخمری

Table 2. Results of enzyme tests, siderophore production and biofilm of yeast isolates

Species	Protease	Esteras	Amylase	Pectinase	Biofilm formation	Sidrophore production
R. toruloides (J1)	–	+	–/+	–	+	+
K. hebeiensis (J2)	–	–	++	–	–	–
Vishniacozyma sp. (J3)	–	+	–	–	+	–
V. tephrensis (J4)	–	+	–	–	–	–
Mo. aphidis (J5)	–	–	–	–	+	+
Me. sinensis (J6)	–	–	–	–	–	–
Me. sinensis (J7)	–	–	–	–	+	+
Me. sinensis (J8)	–	–	–	–	+	–
Naganishia sp. (J9)	+	+	+	+	-	-
M. pulcherrima (J10)	+	+	+	+	–	–
N. adeliensis (J11)	–	+	–	–	+	–
N. adeliensis (J12)	–	–	–	–	–	–
V. carnescens (J13)	–	+	–	–	–	–
N. adeliensis (J14)	-	-	-	-	-	-
V.tephrensis (J15)	-	+	-	-	-	-
V. tephrensis (J16)	–	–/+	–	–	–	–

بر اساس نتایج آزمون، از بین ۱۶ جدایه مخمر بررسی شده شش جدایه J1، J3، J5، J7، J8 و J11 قادر به تشکیل بیوفیلم بودند (جدول ۲)

تولید سیدروفور

تولید سیدروفور فقط در سه جدایه J1، J5 و J7 مشاهده گردید (جدول ۲).

توانایی مهار زیستی جدایه‌های مخمری منتخب در شرایط گلخانه ای

بررسی اثر دو جدایه منتخب مخمری (*R. toruloides* J1 و *Me. Sinensis* J7) در گلخانه، بیانگر اثر مثبت آن‌ها در مهار بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار ناشی از جدایه *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* بود (شکل ۴).

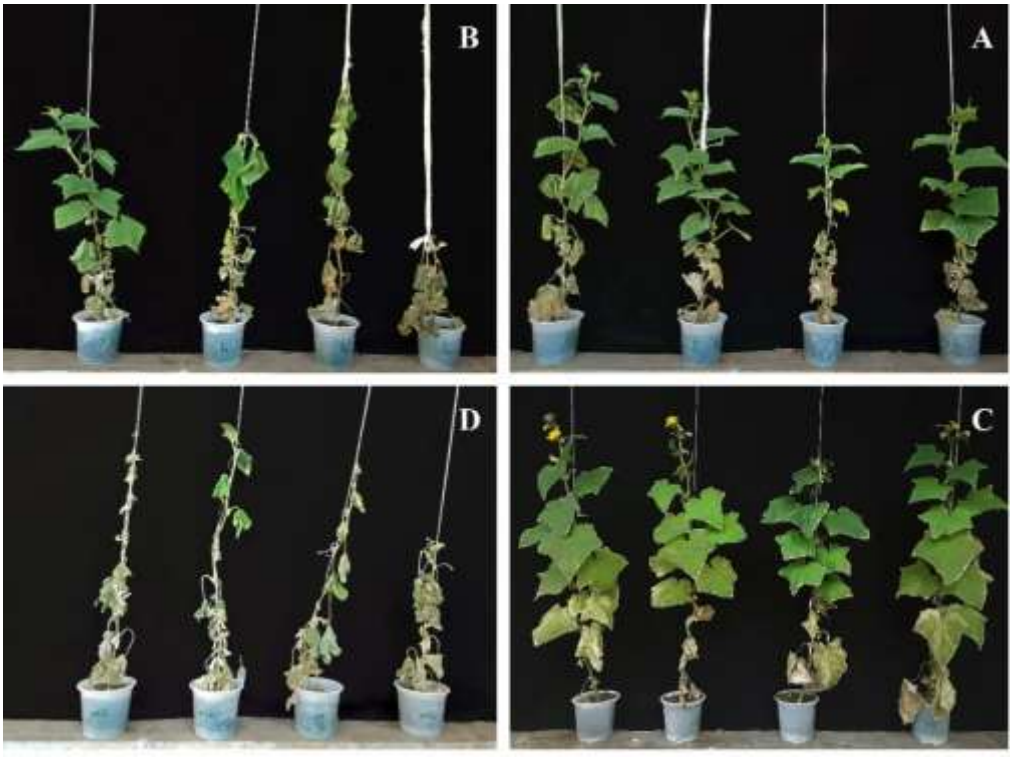
بیشترین شاخص بیماری در گیاهان شاهد آلوده با میزان ۸۳/۹۶ درصد مشاهده گردید و در شاهد سالم علایم بیماری مشاهده نشد. شاخص بیماری در تیمارهای جدایه‌های مخمری *R. toruloides* J1 و *Me. sinensis* J7 به ترتیب ۱۶/۸۸ و ۵۸/۸۸ درصد بود که با یکدیگر و همچنین با شاهدهای آلوده و سالم اختلاف معنی‌داری داشتند کارآیی جدایه J1 با ۷۹/۸۹ درصد، اختلاف معنی‌داری با جدایه J7 (با ۲۹/۸۷ درصد کارآیی مهار) داشت (جدول ۴).

جدول ۳. تجزیه واریانس شاخص بیماری تیمارهای مختلف در شرایط گلخانه

منابع تغییرات (S.O.V)	درجه آزادی (DF)	مجموع مربعات (SS)	میانگین مربعات (MS)	F
مخمر	۳	۱۳۲۶۹/۸	۴۴۲۳/۲۶	۲۹۱۱۱/۶**
خطای آزمایش	۸	۱/۲۱	۰/۱۵۱	
ضریب تغیرات (درصد)		۰/۹۸		

جدول ۴. شاخص بیماری و کارآیی کنترل تیمارهای مختلف در شرایط گلخانه

تیمار	شاخص بیماری	کارآیی کنترل
جدایه *R. toruloides* J1	۱۶/۸۹ [a]	۷۹/۸۹ [a]
جدایه *Me. sinensis* J7	۵۸/۸۹ [b]	۲۹/۸۷ [b]
شاهد آلوده	۸۳/۹۶ [c]	–
شاهد سالم	۰ [d]	–



شکل ۴ علایم بیماری پژمردگی خیار در تیمار با جدایه‌های مخمری J1 (*R. toruloides*، A) و J7 (*Me. sinensis*، B) در مقایسه با شاهدهای سالم (C) و آلوده (D).

Figure 3. Symptoms of cucumber wilt disease in treatment with yeast isolates J1 (*R. toruloides*, A) and J7 (*Me. sinensis*, B) compared to healthy (C) and infected (D) controls.

بحث

براساس گزارش‌های متعدد، مخمرها توانایی مهار بیماری‌های قارچی خاکزاد را دارند. برای مثال سه گونه از مخمرهای به‌دست آمده از ریزوسفر شامل *Candida valida*، *Rhodotorula glutinis* و *Trichosporon asahi* به‌تنهایی و یا در ترکیب با یکدیگر، به‌طور معنی‌داری موجب کاهش بوته‌میری گیاهچه و پوسیدگی ریشه ناشی از *Rhizoctonia solani* شده‌اند(El-Tarabily & Sivasithamparam, 2006).

همه ۱۶ جدایه مخمری مورد بررسی، در آزمون کشت متقابل موجب کاهش قطر کلنی *F.* oxysporum f. sp. *cucumerinum* در مقایسه با شاهد شدند. بیشترین مهار رشد قارچ بیمارگر مربوط به جدایه‌های J7 *Me. sinensis* و J1 *R.* toruloides به ترتیب با ۶۰/۴۲ و ۵۶/۲۵ درصد مهارکنندگی و کمترین میزان بازدارندگی از رشد بیمارگر نیز مربوط به جدایه‌ی J13 *V. carnescens* با ۸/۳۳ درصد کاهش رشد قارچ بیمارگر بود. نتایج ارزیابی این دو جدایه برتر در گلخانه، بیانگر کاهش معنی‌دار شاخص بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار توسط این دو مخمر بود. با این‌حال، کارآیی J1 و J7 در گلخانه اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشت و کارآیی مهار آن‌ها به ترتیب ۷۹/۸۹ و ۲۹/۸۷ محاسبه گردید که نشان‌دهنده کارآیی بالای جدایه J1 بود.

درک سازوکارهای دخیل در فعالیت مهار زیستی، اساس توسعه و کاربرد موفق مخمرها به‌عنوان عوامل حفاظت گیاهان می‌باشد (Spadaro & Droby, 2016). در در عملکرد آنتاگونیستی مخمرهایی که دارای فعالیت مهار زیستی هستند و تا به‌حال با جزئیات بیشتری مطالعه شده‌اند، سازوکارهای مختلفی مثل رقابت برای غذا و مکان، ترشح آنزیم‌ها، تولید زهرابه‌ها، رهاسازی ترکیبات فرار آلی، پارازیتیسم مستقیم قارچی و القای مقاومت در گیاهان دخیل هستند (Droby et al., 2009).

در پژوهش حاضر آزمون‌های مورد نیاز برای بررسی تولید آنزیم‌های مختلف برای تمام جدایه‌ها انجام گرفت. با توجه به نتایج این آزمون‌ها مشاهده شد که از بین ۱۶ جدایه مورد بررسی، دو جدایه J9 و J10 به ترتیب متعلق به گونه‌های *Naganishima* sp. و *M. pulcherrima* در همه آزمون‌ها موفق به تولید آنزیم‌های خارج سلولی استراز، پروتئاز، پکتیناز و آمیلاز بودند ولی جدایه‌های J5 J6 J8 J12 J14 و J7 هیچ آنزیمی تولید نکردند. همچنین در پژوهش حاضر، جدایه برتر *R. toruloides* J1 موفق به تولید آنزیم‌های آمیلاز و استراز شد که احتمالاً یکی از مکانیسم‌های زیست‌مهاری این جدایه باشد. آمیلاز باعث تجزیه نشاسته می‌شود که در سال‌های اخیر نقش قابل توجهی در مهار قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی داشته است و بر اساس تحقیق هوانگ و همکاران (Huang *et al.* 2022)، تولید آنزیم آمیلاز بر قابلیت کلنیزه کردن عوامل مهار زیستی موثر می‌باشد.

در این بررسی جدایه‌های *Naganishia* sp. J9 و *M. pulcherrima* J10 قادر به تولید آنزیم پروتئاز بودند. پروتئازها از جمله عوامل مهم شدت بیماری‌زایی در قارچ‌های بیماری‌زای حشرات هستند. با این حال در مورد نقش آن‌ها در مخمرهای مهار زیستی مطالعات بسیار محدودی انجام گرفته است. فعالیت پروتئاز در جنس‌های *Metschnikowia* و *Wickerhamomyces* گزارش شده است (Pretscher et al., ۲۰۱۸). در بعضی مطالعات گزارش شده است که گونه‌های جنس *Metschnikowia*قابلیت بالایی در تولید آنزیم‌های خارج سلولی دارند (Sipiczki, ۲۰۲۰؛ Pawlikowska *et al.* 2019, Horváth *et al.* 2021). گونه‌های جنس *Naganishia* به‌عنوان عوامل مهار زیستی در چند دهه گذشته علیه بیماری‌های قارچی گیاهان مختلف استفاده شده اند که یکی از مکانیسم‌های اثر آن‌ها تولید آنزیم‌های تخریب‌کننده دیواره سلولی است (Thambugala et al., ۲۰۲۰).

با توجه به این که در تحقیق حاضر دو جدایه J9 و J10 به ترتیب ۳۶/۶۷ و ۳۴/۱۷ درصد بازدارندگی رشد میسلیوم بیمارگر را در کشت متقابل از خود نشان دادند و اختلاف معنی‌داری با سه جدایه با بیشترین درصد بازدارندگی داشتند، به نظر می‌رسد عدم کافی بودن میزان پروتئاز مترشحه یا عوامل دیگری در کارآیی پایین مهارزیستی این جدایه‌ها دخیل باشند که نیازمند بررسی بیشتر است.

در تحقیق حاضر شش جدایه قادر به تولید بیوفیلم بودند که دو جدایه J1 *R. toruloides* و J7 *Me. Sinensis* که در آزمایش‌های درون‌شیشه‌ای و گلخانه‌ای در مهار رشد قارچ *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* موفق عمل کردند و بیشترین درصد بازدارندگی را از خود نشان دادند نیز در میان آن‌ها هستند که ممکن است یکی از مکانیسم‌های مهارزیستی این مخمرها باشد. در پژوهش‌های بسیاری توانایی تولید بیوفیلم در مخمرهای *Rhodotorula*، *Aureobasidium pullulans* و *Platypus fermentans* گزارش گردیده است (Gattlen et al., 2011; Giobbe et al., 2007; Klein & Kupper, 2018; Zajc et al., 2020). در حقیقت تولید بیوفیلم به اتصال، کلنیزه کردن و رشد آنتاگونیست روی بافت گیاه کمک می‌کند و باعث بالابردن قابلیت آنتاگونیستی جهت جذب مواد غذایی مورد نیاز می‌شود (Yang et al., ۲۰۲۱).

سیدروفورها ترکیبات خارج سلولی با وزن مولکولی کم هستند. مکانیسم اصلی مهارزیستی میکروارگانیسم‌های تولیدکننده سیدروفور، رقابت برای جذب آهن سه ظرفیتی می‌باشد. نتایج بررسی‌ها نشان داده است که مخمر *R. glutinis* جداسازی شده از ریزوسفر، سیدروفوری به نام اسید رودوتورولیک تولید می‌نماید که آهن را از محیط جذب کرده و از تندش اسپور قارچ‌های *Penicillium expansum* و *Botrytis cinerea* ممانعت می‌کند (Calvente et al., 1999)(Sansone *et al.* 2005). معمولاً میکروارگانیسم‌هایی که سیدروفور تولید می‌کنند، به عنوان عوامل محرک رشد گیاه نیز عمل می‌کنند. همچنین براساس گزارش‌های موجود، این ترکیبات باعث القاء مقاومت در گیاه و در نتیجه منجر به مقاوم شدن گیاه در مقابل بیمارگرهای گیاهی می‌شوند (Maindad et al., ۲۰۱۴).

در این تحقیق، تولید سیدروفور در سه جدایه J1 *R. toruloides*، J5 *Mo. aphidis* و J7 *Me. sinensis* مشاهده شد که این سه جدایه بیشترین درصد بازدارندگی از رشد میسلیوم *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* در شرایط درون‌شیشه‌ای (کشت متقابل) را از خود نشان دادند و اختلاف معنی‌داری با همدیگر نداشتند. علاوه براین، دو جدایه J1 *R. toruloides* و J7 *Me. Sinensis* در گلخانه نیز بیماری را مهار کردند، اگرچه کارآیی مهار آن‌ها اختلاف معنی‌داری با همدیگر داشت. بنابراین، به نظر می‌رسد که در بین آنزیم‌ها و ترکیبات مورد بررسی، سیدروفور نقش مهمی در مهارزیستی این جدایه‌های برتر داشته باشد ولی اثبات این موضوع نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

تولید ترکیبات فرار یکی دیگر از مکانیسم‌هایی است که مخمرها بدین طریق موجب مهار رشد قارچ‌های بیمارگر می‌شوند. در گزارشات مشخص شده که مخمرها چند گروه از متابولیت‌های مهارکننده رشد قارچ بیمارگر شامل الکل‌ها، استرها[1]، آلکان‌ها[2]، آلکن‌ها[3]، آرن‌ها[4]، اسیدهای آلی، کتون‌ها[5]، آلدهیدها[6] و آمین‌ها[7] را تولید می‌کنند (Contarino et al., 2019). در این تحقیق، اثر تولید ترکیبات فرار بر مهار رشد *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* توسط جدایه‌های مخمری متفاوت بود. از بین ۱۶ جدایه

[1] Esters
[2] Alkanes
[3] Alkenes
[4] Arenes
[5] Ketones
[6] Aldehydes
[7] Amines

بررسی شده، بعد از ۱۴ روز جدایه *N. adeliensis* J11 ۵۱/۱۱ درصد رشد قارچ بیمارگر را مهار کرد ولی اثر سایر جدایه‌ها کم بود و اختلاف معنی‌داری با J11 داشتند که نشان می‌دهد جدایه‌های مورد استفاده در این مطالعه، مواد فرار موثر کمی تولید کردند و قادر به مهار قابل توجه در رشد میسلیوم *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* نبودند.

در کل، نتایج این تحقیق نشان داد که جدایه *R. toruloides* J1 می‌تواند به‌عنوان تیمارهای اصلاحی غیرشیمیایی علیه بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار استفاده شود. اما به منظور بهره‌برداری گسترده از این آنتاگونیست، بایستی تحقیقات بیشتری در زمینه اثر این جدایه روی جدایه‌های دیگری از قارچ *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* انجام گیرد و کارآیی آن در گلخانه و مزرعه نیز بررسی شود.

نتیجه‌گیری

در بررسی توانایی مهار زیستی جدایه‌های مخمری علیه قارچ بیمارگر *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum*، جدایه‌های *Me. Sinensis* J7 ، *R. toruloides* J1 و *Mo. Aphidis* J5 به ترتیب با ۶۰/۴۲، ۵۶/۴۵ و ۴۱/۴۵ درصد بازدارندگی، بیشترین ممانعت از رشد میسلیوم قارچ را در کشت متقابل نشان دادند. در آزمایش‌های گلخانه‌ای، جدایه‌های J1 و J7 به طور معنی‌داری شاخص بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار را کاهش دادند، به طوری که کارآیی مهار بیماری توسط J1 حدود ۷۹/۸۹ درصد و توسط J7 حدود ۲۹/۸۷ درصد بود. این نتایج نشان می‌دهد که جدایه J1 پتانسیل بالایی برای استفاده به عنوان عامل مهار زیستی در مدیریت بیماری‌های گیاهی دارد.

مکانیسم‌های احتمالی مهار زیستی شامل تشکیل بیوفیلم، تولید سیدروفور و ترشح آنزیم‌های خارج سلولی مانند استراز، آمیلاز و پکتیناز در جدایه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. جدایه‌های *R. toruloides* J1، *Mo. aphidis* J5 و *Me. Sinensis* J7 توانایی تولید سیدروفور و تشکیل بیوفیلم را داشتند که به نظر می‌رسد این توانایی‌ها به‌خصوص تولید سیدروفور از مکانیسم‌های احتمالی مهار رشد و کنترل *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* باشند. همچنین، برخی جدایه‌ها توانایی تولید آنزیم‌های خارج سلولی مانند استراز، آمیلاز و پکتیناز را نشان دادند.

در نهایت، این تحقیق نشان داد که جدایه *R. toruloides* J1، پتانسیل قابل توجهی به عنوان عامل مهار زیستی برای مدیریت بیماری پژمردگی فوزاریومی خیار دارد. با این حال، برای بهره‌برداری از این پتانسیل، انجام مطالعات تکمیلی در سطح مزرعه و بررسی سازگاری این جدایه با شرایط محیطی مختلف ضروری است.

تعارض منافع

نویسندگان تایید می‌کنند که این تحقیق در غیاب هر گونه روابط تجاری یا مالی می‌تواند به عنوان تضاد منافع بالقوه تعبیر شود، انجام شده است.

موازین اخلاقی

در انجام این پژوهش تمامی موازین و اصول اخلاقی رعایت گردیده است.

تشکر و قدردانی

این تحقیق قسمتی از پایان نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول می‌باشد. نویسندگان کمال تشکر را از حمایت‌های مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی و نیز آزمایشگاه بیماری‌شناسی آن مجموعه دارند.

References

Arab-Salmani, K., & Hakimi, Y. (2024). Evaluation of genetic diversity among superior cucumbers (Cucumis sativus) via morphological and pomological characteristics in Arab-Salmani, K., & Hakimi, Y. (2024). Evaluation of genetic diversity among superior cucumbers

(Cucumis sativus) via morphological and pomological characteristics in warm greenhouse conditions. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, *11*, 229-248. [Link]

Baakza, A., Vala, A. K., Dave, B. P., & Dube, H. C. (2004). A comparative study of siderophore production by fungi from marine and terrestrial habitats. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *311*, 1-9. [Link]

Bolivar-Anillo, H. J., González-Rodríguez, V. E., Cantoral, J. M., García-Sánchez, D., Collado, I. G., & Garrido, C. (2021). Endophytic bacteria Bacillus subtilis, isolated from Zea mays, as potential biocontrol agent against Botrytis cinerea. *Biology*, *10*(492). [Link]

Buzzini, P., & Martini, A. (2002). Extracellular enzymatic activity profiles in yeast and yeast-like strains isolated from tropical environments. *Journal of Applied Microbiology*, *93*, 1020-1025. [Link]

Calvente, V., Benuzzi, D., & De Tosetti, M. I. S. (1999). Antagonistic action of siderophores from Rhodotorula glutinis upon the postharvest pathogen Penicillium expansum. *International Biodeterioration and Biodegradation*, *43*, 167-172. [Link]

Contarino, R., Brighina, S., Fallico, B., Cirvilleri, G., Parafati, L., & Restuccia, C. (2019). Volatile organic compounds (VOCs) produced by biocontrol yeasts. *Food Microbiology*, *82*, 70-74. [Link]

Droby, S., Wisniewski, M., Macarisin, D., & Wilson, C. (2009). Twenty years of postharvest biocontrol research: is it time for a new paradigm? *Postharvest Biology and Technology*, *52*, 137-145. [Link]

El-Tarabily, K. A., & Sivasithamparam, K. (2006). Potential of yeasts as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Mycoscience*, *47*, 25-35. [Link]

Etebarian, H. R., Sholberg, P. L., Eastwell, K. C., & Sayler, R. J. (2005). Biological control of apple blue mold with Pseudomonas fluorescens. *Canadian Journal of Microbiology*, *51*, 591-598. [Link]

Gattlen, J., Zinn, M., Guimond, S., Körner, E., Amberg, C., & Mauclaire, L. (2011). Biofilm formation by the yeast Rhodotorula mucilaginosa: process, repeatability and cell attachment in a continuous biofilm reactor. *Biofouling*, *27*, 979-991. [Link]

Giobbe, S., Marceddu, S., Scherm, B., Zara, G., Mazzarello, V. L., Budroni, M., & Migheli, Q. (2007). The strange case of a biofilm-forming strain of Pichia fermentans, which controls Monilinia brown rot on apple but is pathogenic on peach fruit. *FEMS Yeast Research*, *7*, 1389-1398. [Link]

Gordon, T. R. (2017). Fusarium oxysporum and the Fusarium wilt syndrome. *Annual Review of Phytopathology*, *4*, 23-39. [Link]

Kaur, S., Samota, M. K., Choudhary, A. K., Pandey, A. K., Sharma, A., & Thakur, J. (2022). How do plants defend themselves against pathogens-Biochemical mechanisms and genetic interventions. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *28*, 485-504. [Link]

Klein, M. N., & Kupper, K. C. (2018). Biofilm production by Aureobasidium pullulans improves biocontrol against sour rot in citrus. *Food Microbiology*, *69*, 1-10. [Link]

Koike, S. T., Gladders, P., & Paulus, A. O. (2007). *Vegetable Diseases, A Colour Handbook*. Manson Publishing. [Link]

Kowalska, J., Krzymińska, J., & Tyburski, J. (2022). Yeasts as a potential biological agent in plant disease protection and yield improvement-A short review. *Agriculture*, *12*, 1404. [Link]

Maindad, D. V., Kasture, V. M., Chaudhari, H., Dhavale, D. D., Chopade, B. A., & Sachdev, D. P. (2014). Characterization and fungal inhibition activity of siderophore from wheat rhizosphere associated Acinetobacter calcoaceticus strain HIRFA32. *Indian Journal of Microbiology*, *54*, 315-322. [Link]

Mohammadi, J., & Abrin Bana, M. (1403). *Investigating the ability of yeast isolates obtained from greenhouses and cucumber fields around Urmia in biological control of Fusarium wilt of cucumber* [Master's thesis, Nazlo Faculty of Agriculture].

Pretscher, J., Fischkal, T., Branscheidt, S., Jäger, L., Kahl, S., Schlander, M., Thines, E., & Claus, H. (2018). Yeasts from different habitats and their potential as biocontrol agents. *Fermentation*, *4*, 31. [Link]

Raza, W., Ling, N., Zhang, R., Huang, Q., Xu, Y., & Shen, Q. (2017). Success evaluation of the biological control of Fusarium wilts of cucumber, banana, and tomato since 2000 and future research strategies. *Critical Reviews in Biotechnology*, *37*, 202-212. [Link]

Ruzicka, F., Hola, V., Votava, M., & Tekkalov, A. R. (2007). Importance of biofilm in Candida parapsilosis and evaluation of its susceptibility to antifungal agents by colorimetric method. *Folia Microbiologica*, *52*, 209-214. [Link]

Schwyn, B., & Neilands, J. B. (1987). Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochemistry*, *60*, 47-56. [Link]

Sipiczki, M. (2020). Metschnikowia pulcherrima and related pulcherrimin-producing yeasts: fuzzy species boundaries and complex antimicrobial antagonism. *Microorganisms*, *8*, 1029-1048. [Link]

Spadaro, D., & Droby, S. (2016). Development of biocontrol products for postharvest diseases of fruit: the importance of elucidating the mechanisms of action of yeast antagonists. *Trends in Food Science & Technology*, *47*, 39-49. [Link]

Strauss, M. L. A., Jolly, N. P., Lambrechts, M. G., & Van Rensburg, P. (2001). Screening for the production of extracellular hydrolytic enzymes by non-saccharomyces wine yeasts. *Journal of Applied Microbiology*, *91*, 182-190. [Link]

Thambugala, K. M., Daranagama, D. A., Phillips, A. J. L., Kannangara, S. D., & Promputtha, I. (2020). Fungi vs. fungi in biocontrol: An overview of fungal antagonists applied against fungal plant pathogens. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *10*, 604923. [Link]

Wang, L., Wang, N., Yu, J., Wu, J., Liu, H., & Lin, K. (2023). Identification of pathogens causing alfalfa Fusarium root rot in Inner Mongolia, China. *Agronomy*, *13*, 456. [Link]

Yang, H., Wang, L., Li, S., Gao, X., Wu, N., Zhao, Y., & Sun, W. (2021). Control of postharvest grey spot rot of loquat fruit with Metschnikowia pulcherrima E1 and potential mechanisms of action. *Biological Control*, *152*, 104406. [Link]

Zajc, J., Černosa, A., Di Francesco, A., Castoria, R., Curtis, F. D., & Lima, G. (2020). Characterization of Aureobasidium pullulans isolates selected as biocontrol agents against fruit decay pathogens. *Fungal Genome Biology*, *10*, 163. [Link]

Zhai, Y., Zhu, J. X., Tan, T. M., Xu, J. P., Shen, A. R., Yang, X. B., Li, J. L., Zeng, L. B., & Wei, L. (2021). Isolation and characterization of antagonistic Paenibacillus polymyxa HX-140 and its biocontrol potential against Fusarium wilt of cucumber seedlings. *BMC Microbiology*, *21*, 1-12. [Link]