گل و گیاهان زینتی (۱۴۰۱)، ۷(۲): ۳۲۹-۳۴۸
مقاله پژوهشی
DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329

مقایسه تاثیرهای فیزیولوژیک قارچ تریکودرما (والد و جهش یافته) علیه *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* در میخک 'White Liberty'

شیما حیدرپور[۱]، سمیرا شهبازی[*۲]، راضیه سرآبادانی[۱]، حامد عسکری[۲]

۱. گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه پیام نور، تهران

۲. پژوهشکده کشاورزی هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، سازمان انرژی اتمی، کرج

samira.shahbazi.aeoi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۷/۶، تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۱۰/۱۴، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۱۷

چکیده

میخک از گیاهان زینتی مهم است و *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* عامل پژمردگی فوزاریومی، خسارت فراوانی را به پرورش‌دهندگان میخک وارد می‌سازد. هدف از پژوهش کنونی بررسی واکنش گیاه میخک آلوده به قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* و مایه‌زنی شده با قارچ *تریکودرما* (والد و جهش یافته) در برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک و آنزیمی مرتبط با بروز مقاومت به بیمارگر بود. پس از جداسازی و خالص‌سازی عامل بیماری‌زا و تایید بیماری‌زایی آن‌ها، جدایه *F. oxysporum* N112 به عنوان سویه پرآزار بیمارگر انتخاب شد. جدایه‌های *تریکودرما* (والد و جهش‌یافته) از کلکسیون پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای دریافت و قدرت جلوگیری از رشد *F. oxysporum* N112 در شرایط درون شیشه‌ای بررسی شد. میزان کاهش بروز بیماری در اثر تیمار با *تریکودرمای* منتخب روی گیاه میخک 'White Liberty' در گلخانه بررسی شد. میزان پروتئین، سبزینه a وb، کارتنوئید و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز در نمونه‌های برگی در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ اندازه گیری شد. نتایج این پژوهش نشان از کاهش تولید پروتئین، سبزینه a و b، کاروتنوئید در گیاهان آلوده و افزایش آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز در اثر تجمع رادیکال‌های آزاد در بافت برگی داشت. در حالی‌که مایه زنی با *تریکودرما* منجر به افزایش محتوی پروتئین، سبزینه a و b و کاروتنوئید در برگ و جلوگیری از انباشت رادیکال های آزاد و در نتیجه کاهش تجمع آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز در گیاه میخک آلوده به قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* شد. افزون بر این، در گیاهان تیمار شده با *تریکودرمای* جهش‌یافته افزایش انباشت سبزینه و پروتئین در برگ و کاهش بروز بیماری درمقایسه با جدایه *تریکودرما* (والد) دیده شد. از سوی دیگر، تیمار با تریکودرمای جهش‌یافته بیش از جدایه والد در پیشگیری از پیشرفت بیماری، ۲۱ روز پس از مایه زنی با بیمارگر تاثیر داشت که ممکن است به دلیل تاثیر تیمار با *تریکودرمای* جهش‌یافته در کاهش اکسایش یاخته‌ای در گیاه بیمار باشد. در مجموع، نتایج نشان داد که، *تریکودرمای* جهش یافته افزون بر قدرت ناهم‌افزایی (آنتاگونیستی) بالاتر از والد، از راه تاثیر بیشتر در تعادل اکسایش یاخته‌ای می‌تواند عامل کنترل زیستی موثرتری در برنامه تلفیقی مبارزه با عامل پژمردگی فوزاریومی میخک باشد.

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

واژه‌های کلیدی: *Dianthus caryophyllus*، *Fusarium oxysporum*، *تریکودرما*، کنترل زیستی، پرتوتابی با پرتو گاما.

مقدمه

میخک از جمله مهم‌ترین گل‌های زینتی بریدنی تولید شده در ایران است و شهرستان محلات با ۳۸ هکتار سطح زیر کشت، بزرگترین مرکز پرورش این گل بریدنی در کشور است (Zaker Tavallaie *et al*., 2022). در سال های اخیر بروز همه‌گیری ناشی از آلودگی‌های فوزاریومی در این شهرستان خسارت بزرگی را به تولید کنندگان این محصول وارد کرده است. یکی از مهم‌ترین بیماری‌ها در پرورش میخک پژمردگی فوزاریومی است که عامل آن قارچ خاک‌زاد *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* است (Santos-Rodríguez *et al*., 2021). این بیماری در گلخانه‌های دو ساله و سه ساله در شهرستان محلات که با طغیان و تجمع جمعیت بیمارگر رویه‌رو هستند خسارت بیشتری را وارد می‌آورد. قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* توانایی تولید کلامیدوسپورهای به شدت مقاوم[۱]، مهارکنندگان فرار و آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند بیکاورین[۲] را دارا می‌باشد که منجر به دشوار شدن مدیریت این بیماری می‌شود (Rana *et al*., 2017). مبارزه مرسوم با استفاده از سم‌های شیمیایی همیشه همراه با ایجاد آلودگی زیست‌محیطی، مرگ میکروارگانیسم‌های مفید و ایجاد مقاومت در بیمارگر است (Nicolopoulou-Stamati *et al*., 2016). استفاده از قارچکش‌های شیمیایی افزون بر خطرهای زیستی، به‌دلیل کاهش کیفیت سموم موجود در بازار (ارائه سموم تاریخ مصرف گذشته و تقلبی) و افزایش قیمت ناشی از تغییرهای ارزی در کشور بر مشکلات تولید کنندگان میخک افزوده است. بنابراین استفاده از روش‌های کنترل زیستی (از جمله *تریکودرما*) می‌تواند جایگزین مناسبی به جای کنترل شیمیایی بیمارگرها باشد و خطر بروز مقاومت در برابر قارچ‌کش‌ها را کاهش دهد (Sundaramoorthy & Balabaskar, 2013) و در افزایش تولید میخک و کاهش هزینه کنترل بیماری و تداوم استفاده از گلخانه‌ها بسیار موثر باشد. *تریکودرما* قارچ خاک‌زاد بوده و با استفاده از مکانیسم‌های چندگانه (مایکوپارازیتیسم، رقابت و آنتی بیوز[۳]) منجر به کاهش جمعیت فعال بیمارگر در خاک و انگیزش مقاومت به گیاه هدف می‌شود (Khan *et al*., 2020). فعالیت ضدقارچی *تریکودرما* ناشی از تولید هیدرولازهای گلیکوزیل همچون کیتینازها و β-۱،۳- گلوکانازها است که به ترتیب باعث تجزیه کیتین و پلیمرهای گلوکان می‌شود(Ros & Pascual, 2011). همچنین، این قارچ به علت توانایی تولید آنتی‌بیوتیک‌ها، انگلی شدن روی دیگر قارچ‌ها و رقابت با دیگر میکروارگانیسم‌های مضر برای گیاهان به طور گسترده مورد پژوهش قرار گرفته است (Howell, 2006). فعالیت هر مکانیسم منجر به تولید ترکیب‌ها و متابولیت‌های ویژه مانند القاکننده‌های رشد، آنزیم‌های هیدرولیتیک، سیدروفورها، آنتی‌بیوتیک‌ها، کربن و نیتروژن شده و از این رو رشد گیاهان را در خاک را افزایش می‌دهد (Ros & Pascual, 2011).

برهمکنش میزبان- بیمارگر همراه با تغییر در برخی از آنزیم‌های دفاعی همچون پراکسیدازها و پلی‌فنول اکسیدازهاست (De Gara *et al*., 2003). این آنزیم‌ها باعث جلوگیری از کلونیزه شدن توسط بیمارگر از راه برهمکش با فنول‌ها و بیوسنتز لگنین و سوبرین می‌شوند (Santos-Rodríguez *et al*., 2021). در برخی از پژوهش‌ها بیان شده است که سطوح بالای این آنزیم‌ها منجر به مقاومت گیاه به بیمارگر می‌گردد (Lavania *et al*., 2006). *تریکودرما* توانایی این را دارد که بر افزایش تجمع آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در میزبان و انگیزش مقاومت به بیمارگر کمک نموده و در بیمارگرهای خاکبردی مانند *Fusarium oxysporum* f.sp.

۱- Highly Resistant Chlamydospores ۲- Bikaverin ۳- Antibiosis

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

dianthi و میزبان‌های چند ساله مانند میخک این راهبرد بسیار کارایی دارد. برای افزایش کارایی کنترل زیستی این بیماری روی میخک، در پژوهش حاضر از روش انگیزش مقاومت در قارچ *تریکودرمای* بومی ایران با استفاده از پرتوتابی با پرتو گاما استفاده شده است. برای بررسی نحوه اثر *تریکودرما*، افزون بر بررسی میزان بروز بیماری و شاخص‌های رشد، واکنش گیاه میخک آلوده شده به قارچ *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* و مایه زنی شده با عامل آنتاگونیستی *تریکودرمای* والد و جهش یافته در سطح برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک و آنزیمی نیز مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جداسازی و خالص سازی عامل بیمارگر از میخک

قارچ‌های بیمارگر مورد استفاده در این پژوهش، از نمونه‌های گیاه میخک رقم 'White Liberty'، از گلخانه‌های آلوده واقع در شهرستان محلات، شهرک گل، جداسازی شدند. نمونه‌های گیاهان بیمار و نمونه های خاک همراه ریزوسفر آن‌ها به آزمایشگاه بیماری شناسی گیاهی- گروه گیاهپزشکی پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای کرج- پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای منتقل شدند. برای جداسازی بیمارگر از بافت گیاهی، طوقه گیاهان بیمار با آب شستشو داده شد. سپس، بخش‌هایی از حاشیه سالم و بیمار به اندازه یک تا دو میلی متر از طوقه‌های آلوده جداشده و با محلول وایتکس (دارای یک درصد کلر فعال) ضدعفونی سطحی شدند و روی محیط کشت CLA (برگ میخک –آگار) و PDA (عصاره سیب زمینی – دکستروز – آگار) در تاریکی و در دمای ۲۸±۲ درجه سلسیوس، برای چهار تا پنج روز، گرمخانه‌گذاری شدند. کشت خالص جدایه‌ها با استفاده از روش نوک‌ریسه‌کردن روی محیط کشت PDA تهیه شد. نگهداری جدایه‌ها روی قطعه‌های چوبی خلال‌دندان، انجام شد.

بررسی قدرت بیماری‌زایی عوامل بیمارگر جداسازی شده

در آغاز زادمایه از جدایه‌های قارچ بیمارگر برای اثبات بیماری‌زایی تهیه شد. سوسپانسیونی از اسپورهای جدایه‌های بیمارگر (فوزرایوم) با غلظت^{۱۰۵} اسپور در هر میلی‌لیتر آب مقطر استریل به وسیله لام گلبول شمار تهیه و با استفاده از آب مقطر استریل به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد. از این سوسپانسیون اسپور برای مایه زنی به طوقه گیاه میخک 'White Liberty' در مرحله ۴ تا ۵ برگی استفاده شد (Lori *et al.*, 2004). این آزمایش در سه تکرار و هر گلدان (بوته) به عنوان یک تکرار انجام شد. خاک کشت حاوی پرلایت و کوکوپیت، شن و ماسه به نسبت ۱:۱:۱:۱ به طور کامل مخلوط و پس از مرطوب کردن آن درون کیسه‌های پلاستیکی دو جداره قرار داده شد و داخل اتوکلاو در حرارت ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار یک اتمسفر در دو نوبت هر بار برای ۲ ساعت به طور کامل استریل گردید و گلدان‌ها در اتاق کشت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس برای سه هفته قرار داده شده و آبیاری سه بار درهفته از راه آب پاشی دستی انجام شد. قارچ عامل بیماری از گیاهانی که علائم آلودگی را نشان داده بودند، جداسازی شد و مشخصات این نمونه با نمونه‌های جدا شده قبلی مقایسه و همانندی تبارشناسی آن‌ها با استفاده از کلید شناسایی لزلی و سامرل (Leslie & Summerell, 2008)، مورد بررسی قرار گرفت (Shahbazi *et al.*, 2021).

شناسایی مولکولی کلیه جدایه‌های فوزاریوم شناسایی شده با استفاده از تکثیر ناحیه ژن *TEF-1 α* با استفاده از پرایمرهای ef1 و ef2 انجام شد. قطعه‌های تکثیر شده خالص سازی و توالی یابی شدند و توالی‌های نوکلئوتیدی در پایگاه داده Fusarium ID برای شناسایی مولکولی جدایه‌ها بر اساس ژن *TEF-1α* معرفی و درخت فیلوژنتیک نیز ترسیم شد. بر این اساس شناسایی N112 به عنوان جدایه متعلق به گونه *F. oxysporum* تایید گردید (Shahbazi *et al.*, 2021).

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

پس از انجام آزمون بیماریزائی، *F. oxysporum* N112 بالاترین شدت نشانه‌های بیماری را روی قلمه‌های میخک داشت و به عنوان جدایه پرآزار بیمارگر برای ارزیابی‌های گلخانه‌ای و بررسی واکنش میخک به *تریکودرما* و بیمارگر انتخاب شد. برای شناسایی فرم ویژه f. sp. *dianthi* با استفاده از روش لوری و همکاران، مایه زنی بر روی سه گیاه (گوجه فرنگی رقم Falat، خیاربذر دورگه F1[1] و گلایول رقم Oscar)، درمرحله گیاهچه‌های شش برگی، با استفاده از سوسپانسیون اسپورهای جدایه N112 فوزرایوم با غلظت[5]۱۰ اسپور در میلی‌لیتر آب انجام شد (Lori *et al.*, 2004).

غربالگری کلکسیون تریکودرما برای انتخاب جدایه‌های والد و جهش‌یافته تریکودرما

برای غربالگری گونه‌های تریکودرمای والد از کلکسیون عوامل کنترل زیستی موجود در آزمایشگاه بیماری شناسی- گروه گیاهپزشکی- پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، آزمون ارزیابی میزان قدرت آنتاگونیستی گونه‌های *تریکودرما* با استفاده از روش کشت متقابل آن‌ها با عوامل بیمارگر انجام شد تا بهترین جدایه از نظر جلوگیری از رشد شعاعی میسلیومی ۱۴ جدایه بیمارگر خالص سازی شده انتخاب شود. از بین ۷۹ گونه والد تریکودرما، گونه‌های تریکودرمای منتخب شامل جدایه‌های والد (*T. harzianum* NAS110, *T. viride* NAS106, *T. atroviride* NAS112, *T. koningii* NAS107 *and T. virens* NAS114) بودند که بالاترین قدرت آنتاگونیستی را نشان دادند.

انگیزش جهش با استفاده از پرتوتابی برروی سوسپانسیون اسپور هر گونه *تریکودرما* به طور جداگانه در دامنه دز بهینه انگیزش جهش (۲۵۰ گری) با استفاده از دستگاه گاماسل[2] با چشمه کبالت ۶۰– اکتیویته ۲۵۰۰کوری و نرخ دز ۰/۱۸گری در ثانیه انجام شد. پس از هفت بار واکشت هر یک از جهش‌یافته‌ها و اطمینان از پایداری تغییرات ریخت‌شناسی و ثبت شده برای هر جدایه جهش‌یافته، اثبات جهش‌یافته بودن آن‌ها با استفاده از نشانگرهای مولکولی و پژوهش‌های آنتاگونیستی و پروفایل پروتئینی آنزیم‌های دخیل در مایکوپارازیتیسم بین *تریکودرما* و عوامل بیمارگر گیاهی (Abbasi *et al.*, 2016; Soufi *et al.*, 2021) انجام شد و در کلکسیون ۷۰۰۰ جدایه جهش‌یافته *تریکودرما* در آزمایشگاه بیماری شناسی گیاهی- گروه گیاهپزشکی نگهداری شدند. برای انتخاب جهش یافته‌های برتر از این کلکسیون، ۲۰ جدایه جهش‌یافته با سرعت رشد بالاتر از جدایه والدشان انتخاب شدند. سپس از هر گونه منتخب، یک جدایه جهش‌یافته که دارای بالاترین قدرت جلوگیری از رشد میسلیومی جدایه پرآزار N112 در کشت متقابل در محیط کشت PDA بود، انتخاب گردید. جدایه‌های جهش‌یافته برتر شامل جدایه‌های NAS110-M8, NAS106-M21, NAS112-M25, NAS107-M1 و NAS114-M12 بودند که قدرت جلوگیری از رشد بیمارگر بالاتر از والد خود داشتند.

ارزیابی قدرت جلوگیری از رشد بیمارگر در آزمایشگاه

برای غربالگری در این روش در آغاز دیسکی به قطر ۵ میلیمتر از کشت سه روزه جدایه‌های *تریکودرما* برداشته و در یک تشتک پتری حاوی محیط کشت PDA با فاصله یک سانتیمتر از لبه تشتک قرار داده شد (هر جدایه در یک تشتک پتری جداگانه و در سه تکرار). همزمان با این کار، به همان اندازه از کشت سه روزه جدایه برتر قارچ فوزاریوم روی محیط کشت PDA برداشته و در طرف مقابل قارچ *تریکودرما* در همان تشتک گذاشته شد. در تیمارهای شاهد تنها کشت سه روزه فوزاریوم و در مقابل آن دیسکی به قطر ۵ میلیمتر از محیط کشت PDA گذاشته شد. تشتک‌های پتری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند و

۱- INCI F1 (ENZA-ZADEN)
۲- Gamma cell -220 irradiator(Nordion-Canada)

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]
[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

رشد و جدایه‌های *تریکودرما* در کشت‌های ۷۲ و ۹۶ ساعت اندازه‌گیری شد و درصد بازدارندگی فاصله زمانی ۹۶ ساعته مورد محاسبه قرار گرفت.

درصد بازدارنگی= (قطر رشد *فوزاریوم* در شاهد- قطر رشد *فوزاریوم* در کشت متقابل با *تریکودرما*) / قطر رشد *فوزاریوم* در شاهد × ۱۰۰

ارزیابی واکنش‌های زیست‌شیمیایی میخک به عوامل آنتاگونیست و بیمارگر

بر اساس داده‌های بیمارگر، جدایه پرآزار *F. oxysporum* N112 که بالاترین شدت نشانه‌ها را روی قلمه‌های میخک در گلخانه نشان داده بود و جدایه‌های والد NAS106 و NAS114 که بالاترین توانایی جلوگیری از رشد ریسه را در برابر همه جدایه‌های *فوزاریومی* بیماری‌زا نشان دادند، انتخاب شدند.

برای بررسی واکنش گیاه میخک به بیمارگر و آنتاگونیست و تعامل این دو، ابتدا گیاهان توسط زادمایه فعال عامل بیمارگر منتخب آلوده‌سازی شدند و پس از آغاز بروز نشانه‌ها در گیاهان کنترل منفی،۷روز بعد از مایه‌زنی، تیمار با *تریکودرما* اعمال گردید. در تیمار با *تریکودرما*، دو تیمار اصلی شامل تیمار والد (مخلوط مساوی از سوسپانسیون اسپور جدایه‌های والد NAS106 و NAS114 به عنوان تیمار تریکودرمای والد) و تیمار جهش‌یافته (مخلوطی از دو جدایه موتانت منتخب NAS106-M21 و NAS114-M12 مربوط به عنوان تیمار *تریکودرمای* موتانت) به خاک گیاهان تحت تیمار با بیمارگر اضافه شدند. گیاهان کنترل مثبت و منفی (گیاهان شاهدی که بیمارگر به آنها مایه‌زنی نشده بود و کنترل منفی که گیاهان میخک آلوده به بیمارگر بودند) و گیاهان تیمار شده با قارچکش شیمیایی کاربندازیم(شرکت سمیران- ایران)، طبق غلظت توصیه شده شرکت سازنده با غلظت ۲ درهزار برای مقایسه کارایی تیمارهای *تریکودرمای* والد و موتانت با روش شیمیایی نیز در بازه زمانی و شرایط مشابه نگهداری شدند. این آزمایش‌ها در گلخانه تحقیقاتی گروه گیاهپزشکی- پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای با دمای ۲۵ درجه سلسیوس و روشنایی روز و شب و رطوبت نسبی ۸۰-۸۵٪ انجام شد. همه تیمارها و شاهد با چهار تکرار و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی انجام شد. برای هر تیمار چهار تکرار و در هر تکرار ۵ گلدان (حداقل ۱۵ گلدان برای هر تیمار) کشت و تیمار و نگهداری شد. برای بررسی تعاملات پاتوسیستم *فوزاریوم* و میخک در حضور و نبود حضور عامل آنتاگونیست (والد و جهش یافته) در سه دوره زمانی ۷ و ۱۴ و ۲۱ روز پس از مایه‌زنی با تریکودرما، شاخص‌های زیست‌شیمیایی شامل پروتئین کل محلول، آنزیم‌های آنتی اکسیدانی پلی فنول اکسیداز و پراکسیداز و رنگدانه‌ها (سبزینه a , b و کارتنوئید) از نمونه‌های برگی تازه استخراج و مورد ارزیابی قرار گرفتند

مایه‌زنی عوامل زیستی منتخب و بیمارگر به قلمه‌های میخک در گلخانه

برای انجام مایه‌زنی با بیمارگر و آنتاگونیست در گلخانه، در آغاز زادمایه بیمارگر و *تریکودرما* تهیه و به گیاهان مایه‌زنی گردید. همه گیاهان، نشاهای سالم و هم اندازه میخک 'White Liberty' با عمر چهار هفته بودند. برای این آزمایش گلدان‌هایی به قطر ۱۷ و ارتفاع ۲۳ سانتیمتر در نظر گرفته شد و در هر گلدان یک نشا سالم کاشته شد. در پایان میزان کاهش بروز بیماری در همه تیمارها محاسبه گردید.

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

تهیه زادمایه قارچ عامل بیماری برای انجام آزمایش‌های گلخانه‌ای

زادمایه فعال بیمارگر از سبوس گندم تهیه شد. در آغاز سبوس در دمای ۱۲۰درجـه سلسیوس برای ۳۰ دقیقه دوبار اتوکلاو شد و با سوسپانسیونی از اسپورهای *F. oxysporum* N112 با غلظت 10^5 اسپور در هر میلی لیتر آب مقطر گندزدایی شده مایه‌زنی گردید و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس در انکوباتور تاریک برای ۷ روز نگهداری شد و برای جلوگیری از چسبیدن اینوکولوم هر روز دوبار، بسترهای مایه‌زنی شده با بیمارگر به شدت تکان داده شدند.

تکثیر جدایه‌های آنتاگونیست برای ارزیابی‌های گلخانه‌ای

برای تهیه زادمایه قارچ‌های آنتاگونیست،از کلونی‌های هفت روزه جدایه‌های والد و موتانت‌های منتخب از مرحله قبل روی محیط PDA پلاک‌هایی به ابعاد ۵ میلی‌متر مربع درون ارلن‌های حاوی ۱۵۰ گرم سبوس گندم دوبار گندزدایی شده افزوده شده و برای ۲۵ روز در انکوبارتور با دمای ۲۷ درجه سلسیوس و در رطوبت ۷۰٪ نگهداری شدند. در این مدت قارچ *تریکودرما* در همه قسمت‌های سبوس اسپورزایی کرده و ۵ گرم از این اینوکولوم برای هر گلدان استفاده شد.

ارزیابی میزان کنترل بیماری توسط تریکودرما در گلخانه

برای آماده سازی تیمارهای بررسی تاثیر جدایه‌های قارچ *تریکودرما* بر بروز بیماری و درصد کاهش بوته‌های آلوده به بیماری پژمردگی *فوزاریومی*، ابتدا دو سوم حجم پایینی گلدان‌ها با خاک پاستوریزه شده پر شد و پس از آن زادمایه جدایه قارچ عامل بیماری به نسبت وزنی۱۰ ٪ با خاک پاستوریزه گلدانی مخلوط (۱۰۰ گرم زادمایه +۹۰۰ گرم خاک) شد و به ۱/۳ حجم بالایی گلدان‌ها افزوده شد و برای ۲۵ روز در گلخانه نگهداری و هر سه روز یک بار آبیاری صورت گرفت تا قارچ *فوزاریوم* به خوبی در خاک مستقر شود. در ادامه ۱۰ گرم سبوس از زادمایه آنتاگونیست‌ها به ازای هر قلمه با خاک قسمت بالای گلدان‌ها که آلوده به قارچ بیماری‌زا بود، آمیخته گردید. برای آماده‌سازی تیمارهای بررسی احتمال بیماری‌زا بودن جدایه‌های *تریکودرما* روی میخک و همچنین بررسی تاثیر این جدایه‌ها بر رشد بوته‌های میخک بدون حضور قارچ عامل بیماری، ابتـدا در گلـدان‌ها خاک پاستـوریزه ریختـه شد و سپس ۲۰۰ گرم از سبوسی که جدایه‌های آنتاگونیست به تنهایی روی آن تکثیر شده بود اضافه شد. در تیمار شاهد آلوده که برای تعیین مناسب بودن شرایط آزمایش و گلخانه برای بروز بیماری پژمردگی *فوزاریومی* در نظر گرفته شده بود، به خاک پاستوریزه داخل گلدان‌ها مقدار ۳۰ گرم زادمایه جدایه قارچ *فوزاریوم* افزوده شد. در تیمار شاهد سالم که برای اطمینان از نبود آلودگی خاک پاستوریزه مورد استفاده و همچنین تعیین درصد بوته‌های آلوده به بیماری در تیمارهای ۱ تا ۱۰ در نظر گرفته شده بود فقط خاک پاستوریزه در گلدان‌ها ریخته شد. گلدان‌ها در گلخانه با دمای ۲۵ تا ۲۸ درجه سانتی گراد برای شش هفته نگهداری شدند و هر روز یک بار آبیاری شدند. برای بررسی تاثیر جدایه‌های قارچ *تریکودرما* بر کنترل بیماری از شاخص ۵ درجه‌ای (Younesi *et al.*, 2013) استفاده شد که در آن عدد یک به معنای نبود بروز بیماری و حداکثر شدت بیماری عدد ۵ می باشد. برای محاسبه این شاخص از رابطه زیر استفاده شد :

درصد شدت بیماری = (تعداد قلمه شاهد آلوده به *فوزاریوم*- تعداد قلمه آلوده در هر تیمار) / تعداد قلمه شاهد الوده به *فوزاریوم**۱۰۰

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

بررسی واکنش فیزیولوژیک قلمه‌های میخک به عوامل زیستی

نمونه‌برداری از برگ‌های چهارم تا ششم قلمه‌های گیاهان میخک، ۴۸ ساعت پس از کاربرد تیمار با عوامل کنترل زیستی انجام شد. برای استخراج و اندازه‌گیری آنزیم‌ها، برگ‌ها در حضور نیتروژن مایع در هاون چینی آسیاب شدند. یک میلی‌متر از بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=7) به ۰/۵ گرم از برگ آسیاب شده اضافه شد و سپس برای ۱۵ دقیقه با ۱۴ هزار دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس، سانتریفیوژ شدند. پس از پایان سانتریفیوژ عصاره رویی برداشته شد. از این عصاره برای سنجش آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز استفاده شد.

سنجش پروتئین کل

برای سنجش مقدار پروتئین کل از روش برادفورد استفاده شد (Bradford, 1976). به ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره پروتئینی، ۵ میلی‌لیتر معرف اضافه و ورتکس شد و جذب نمونه‌ها پس از ۱۰-۵ دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتردر طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. سپس غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد آلبومین گاوی محاسبه و بر حسب میلیگرم بر گرم وزن تر محاسبه شد. همه اندازه‌گیری‌ها ۲۰ روز پس از تلقیح، در سه هفته متوالی با فاصله هفت روز با نمونه‌گیری از برگ انجام شد تا سیر تغییرات آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و تغییرات پروفایل پروتئینی گیاه (به عنوان تغییرات پروفایل پروتئین در طول دوره زمانی) مشخص شود.

اندازه‌گیری سبزینه و کاروتنوئید

برای اندازه‌گیری میزان سبزینه و کاروتنوئید ۱ گرم برگ در هاون با ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ عصاره‌گیری و سپس برای ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. از بخش رویین (قسمت شناور) عصاره به دست آمده نمونه‌برداری شد و میزان جذب با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۵ آنگستروم و ۶۶۳ آنگستروم برای سبزینه و طول موج ۴۷۰ آنگستروم برای کاروتنوئید خوانده شد و میزان سبزینه بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه شد (Lu *et al.*, 2009).

$$\text{سبزینه a گرم وزن تازه/ میلی‌گرم} = (0/0127 \times A_{663}) - (0/00269 \times A_{645})$$

$$\text{سبزینه b گرم وزن تازه/ میلی‌گرم} = (0/0229 \times A_{645}) - (0/00468 \times A_{663})$$

$$\text{سبزینه a+b گرم وزن تازه/ میلی‌گرم} = (0/0202 \times A_{645}) - (0/00802 \times A_{663})$$

فعالیت پراکسیداز

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از گایاکول و اندازه گیری میزان جذب تتراگایاکول تشکیل شده در نتیجه فعالیت پراکسیداز، در ۴۷۰ نانومتر انجام گرفت (Mika & Luthje, 2003). مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ۵۰ میلی مولار pH=۷، پراکسیدهیدروژن (۰/۳ درصد) و گایاکول (۱ درصد) و ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. میزان جذب تتراگایاکول (حاصل از اکسید شدن گایاکول) در ۴۷۰ نانومتر در لحظه شروع واکنش پس از اضافه نمودن عصاره آنزیمی و پس از یک دقیقه خوانده شد. با استفاده از تغییرات جذب در ۴۷۰ نانومتر برای یک دقیقه، ضریب خاموشی تتراگایاکول[1] (۵/۲۵ میلی‌مولار بر سانتی‌متر)، مقدار تتراگایاکول تشکیل شده محاسبه شد. این مقدار از تتراگایاکول معادل فعالیت یک واحد

۱- $5.25\ mM\ cm^{-1}$

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

آنـزیم پراکسـیداز مـی باشـد. فعالیت آنزیم بر حسب واحد آنزیم در مقدار پـروتئین کـل (میلـی‌گـرم) موجـود در ۲۰ میکرولیتـر عصـاره گزارش شد.

فعالیت پلی فنول اکسیداز

مخلوط واکنش شامل بـافر ۲۰/ مولار ۰ پیروگالول و pH=7.6 با ۰/۲ مولار تریس بود. واکنش با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمـی شـروع شـد. در حضـور آنـزیم پلـی فنول اکسـیداز، پیروگـــالول موجـــود در مخلـــوط واکـــنش، بـــه پورپوروگـــالین تبـــدیل مـــی شـــود. کـــاهش در جـــذب پیروگالول در ۴۲۰ نانومتر، پس از ۵ دقیقـه در دمـای ۲۵ درجه سلسیوس نسبت به زمـان شـروع واکـنش، محاسبه شد. تغییـرات جـذب برای ۱ دقیقـه محاسبه شد. با استفاده از ضریب خاموشی پیروگالول (۲/۶ میلی‌مولار بر سانتی‌متر) مقدار برجای مانـده پیروگـالول در مخلوط واکنش به دست می‌آید. یـک واحـد آنزیمـی پلی فنول اکسیداز شامل مقدار پیروگالولی اسـت کـه برای ۱ دقیقه به پوروگالین تبدیل مـی‌شـود. فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کـل (میلـی گـرم) موجـود در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره محاسبه گردید (Dogan & Dogan, 2004).

واکاوی آماری

برای واکاوی داده‌ها از آنالیز واریانس دوطرفه (Two Way ANOVA) با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism V.8 استفاده شد. سطح معنی‌داری ۵٪ در نظر گرفته شد. داده‌ها به صورت میانگین± انحراف معیار بیان شد و همه داده‌ها میانگینی از سه تکرار است. مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ صورت گرفت.

نتایج

جداسازی عامل بیمارگر از میخک

جدایه‌های قارچی جداسازی شده از گیاهان بیمار، پس از خالص سازی، شناسایی شدند. از ۲۷ جدایه خالص سازی شده، ۱۴ جدایه به جنس فوزاریوم تعلق داشتند و ۴ جدایه به گونه *Fusarium oxysporum* تعلق داشتند که با کلید شناسایی لزلی و سامرل (Leslie & Summerell, 2008) شناسایی شدند. ویژگی‌های پرگنه ۴ جدایه متعلق به گونه *Fusarium oxysporum* روی محیط PDA به این ترتیب بود. پس از تولید میسیلیوم هوایی به رنگ سفید به تدریج رنگدانه‌های کم رنگ و یا صورتی متمایل به قرمز در آگار ایجاد شد و سطح زیرین کلونی به رنگ صورتی قرمز در آمد. میکروکنیدی‌ها به صورت سرهای کاذب و روی مونوفیالیدهای کوتاه، ساده و گاهی منشعب تشکیل می‌شدند، ماکروکنیدی‌ها روی محیط CLA به فراوانی تشکیل شده که اندکی خمیده، داسی شکل و اغلب دارای ۲ تا ۳ دیواره عرضی، عمدتا کوتاه و دارای دیواره نازک بودند. یاخته انتهایی ماکروکنیدی‌ها باریک و یاخته پایه به شکل پا است. کلامیدوسپورها پس از ۱۴ تا ۲۰ روز به فراوانی تشکیل و اغلب کروی بودند. با انجام آزمایش‌های شناسایی دامنه میزبانی (گوجه فرنگی، خیار و گلایول) همگی به *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* تعلق گرفتند (شکل ۱).

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

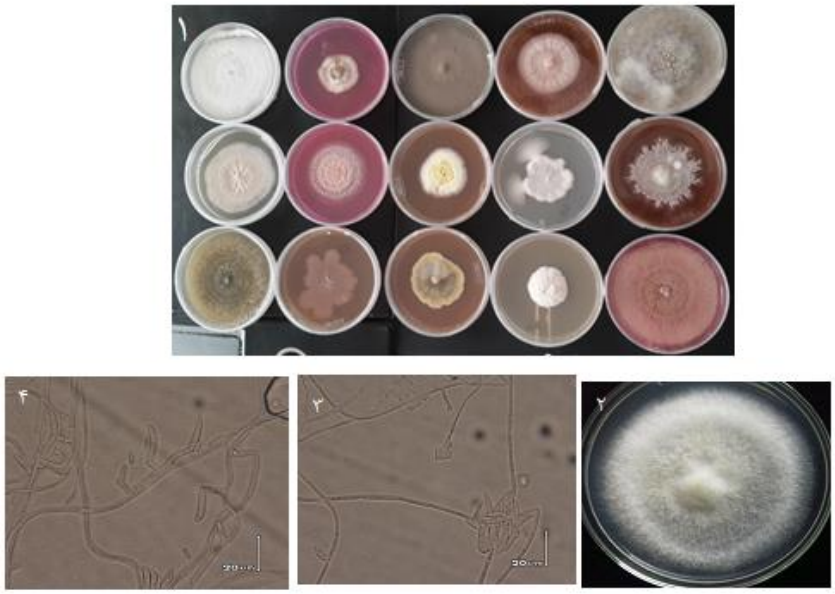

Figure 1. Morphological differences of purified colonies from infected carnation plants (1), images related to morphological identification of *F. oxysporum* species: (2) morphology of the *F. oxysporum* colony on PDA medium, (3) sickle-shaped macroconidia, (4) false head macroconidia and microconidia and monophialides.

شکل ۱- تفاوت‌های مورفولوژیک کلنی‌های خالص سازی شده از گیاهان میخک آلوده (۱)، تصاویر مربوط به شناسایی مورفولوژیک گونه *F. oxysporum*: (۲) مورفولوژی پرگنه *F. oxysporum* روی محیط کشت PDA، (۳) ماکروکنیدی داسی شکل، (۴) ماکروکنیدی و میکروکنیدی‌های سر کاذب و مونوفیالید.

بررسی قدرت بیماری زایی عوامل بیمارگر جداسازی شده

از بین ۱۴ جدایه فوزاریوم مختلف شناسایی و خالص سازی شده، در ارزیابی‌های قدرت بیماری‌زایی، جدایه *F. oxysporum* N112 بالاترین شدت نشانه‌ها را روی قلمه‌های میخک داشت و به عنوان جدایه پرآزار بیمارگر برای ارزیابی‌های گلخانه‌ای و بررسی واکنش میخک به تریکودرما و بیمارگر انتخاب شد.

غربالگری کلکسیون تریکودرما برای انتخاب جدایه‌های موتانت

برای انتخاب جدایه‌های تریکودرمای والد و جهش‌یافته موجود در کلکسیون، ابتدا ارزیابی درون شیشه‌ای جدایه‌های والد و جهش‌یافته تریکودرما بر جلوگیری از رشد بیمارگر هریک از ۱۴ جدایه فوزاریوم شناسایی شده انجام شد. نتایج نشان داد که گونه‌های تریکودرما توانایی جلوگیری از رشد شعاعی میسلوم جدایه‌های فوزاریوم را دارا می باشند اما این میزان در گونه‌ها و موتانت‌ها متفاوت بود و در سطح ۵٪ دارای تفاوت معنی داری بود (شکل ۲). نتایج حاکی از این بود که جدایه‌های *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114 والد و جهش‌یافته NAS106-M21 و NAS114-M12 بالاترین توانایی جلوگیری از رشد شعاعی ریسه در برابر همه جدایه‌های فوزاریومی بیماریزا را داشتند. بنابراین، برای مرحله مایه‌زنی با قلمه‌های میخک در ارزیابی‌های گلخانه‌ای انتخاب شدند.

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

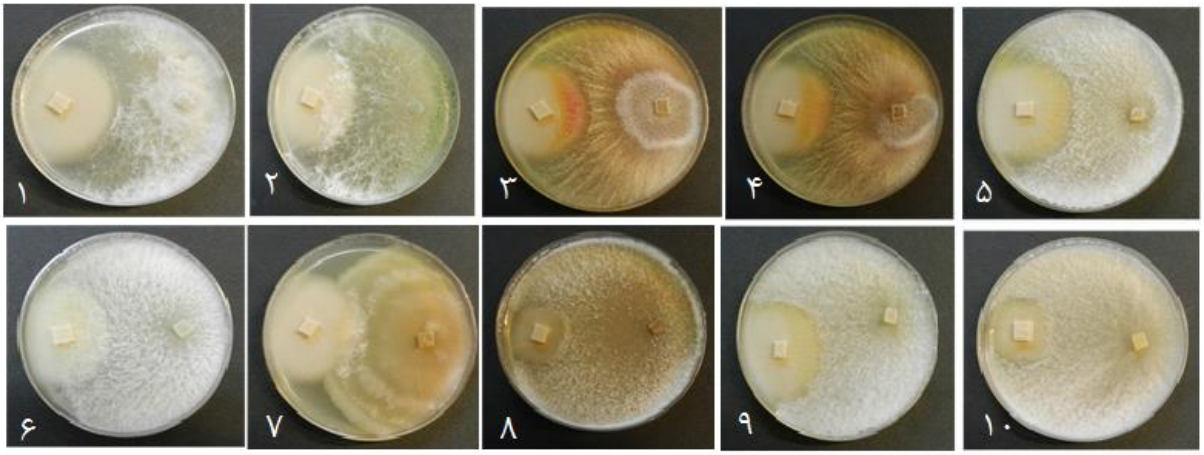

Figure 2. Differences between the radial growth inhabitation of mycelium of *F. oxysporum* N112 and the *Trichoderma* isolates of the parent and mutant: (1) *T. koningii* NAS107 wild type isolate, (2) mutant isolate of NAS107-M1, (3) *T. atroviride* NAS112 wild type isolate, (4) mutant isolate NAS112-M25, (5) *T.harzianum* NAS106 wild type isolate, (6) mutant NAS110-M8, (7) *T. virens* NAS114 wild type isolate, (8) mutant isolate NAS114-M12, (9) *T. viride* NAS106 wild type isolate and (10) mutant isolate NAS106-M21.

شکل ۲- تفاوت موجود بین توانایی جلوگیری از رشد شعاعی میسلیوم جدایه پرآزار *F. oxysporum* N112 و جدایه‌های تریکودرمای والد و موتانت: (۱) جدایه والد *T. koningii* NAS107 و (۲) جدایه جهش‌یافته NAS107-M1 ، (۳)جدایه والد *T. atroviride NAS112* و (۴) جدایه جهش‌یافته NAS112-M25، (۵) جدایه والد *T.harzianum* NAS106 و (۶) جدایه جهش‌یافته NAS110-M8، (۷) جدایه والد *T. virens* (NAS114) و (۸) جدایه جهش‌یافته NAS114-M12 ، (۹) جدایه والد *T. viride* NAS106 و (۱۰) جدایه جهش‌یافته NAS106-M21

کنترل بیماری توسط تریکودرما در گلخانه

بررسی میزان کارایی جدایه‌های والد و جهش‌یافته *تریکودرمای* منتخب در گلخانه نشان داد که بین گیاهان شاهد (بدون تیمار با *فوزاریوم*) و تیمارهای انجام شده با *تریکودرما* در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری وجود دارد. همچنین عامل قارچ *فوزاریومی* *F. oxysporum* N112 پس از هفت روز نشانه‌های کامل بیماری را روی میزبان نشان داد که از فعال بودن و پرآزار بودن *فوزاریوم* مورد استفاده در این پژوهش روی میزبان حکایت دارد (شکل ۳). همانطور که نتایج نشان داد، کارایی استفاده از قارچکش شیمیایی (کاربندازیم ۲ درهزار- شرکت سمیران- ایران) در کنترل بیمارگر در گلخانه به طور معنی داری کمتر از عامل کنترل زیستی غربالگری شده در این پژوهش بود. کارایی عامل کنترل زیستی انتخاب شده در این پژوهش *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114 والد به طور معنی داری بالاتر از سایر تیمارها بود (شکل ۳). همچنین با گذشت زمان میزان تاثیر قارچکش شیمیایی بر کاهش بیماری کاسته شد. در عوامل کنترل زیستی جهش یافته، میزان کنترل بیماری با گذر زمان کاهش نیافت و هرچند تفاوت معنی داری با والد خود در هفته اول نداشتند (شکل ۳)، اما در هفته دوم از پیشرفت بیماری به‌طور معنی داری جلوگیری نمودند که نشان می‌دهد انگیزش جهش در بهبود کارایی عامل کنترل زیستی موثر بوده است.

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

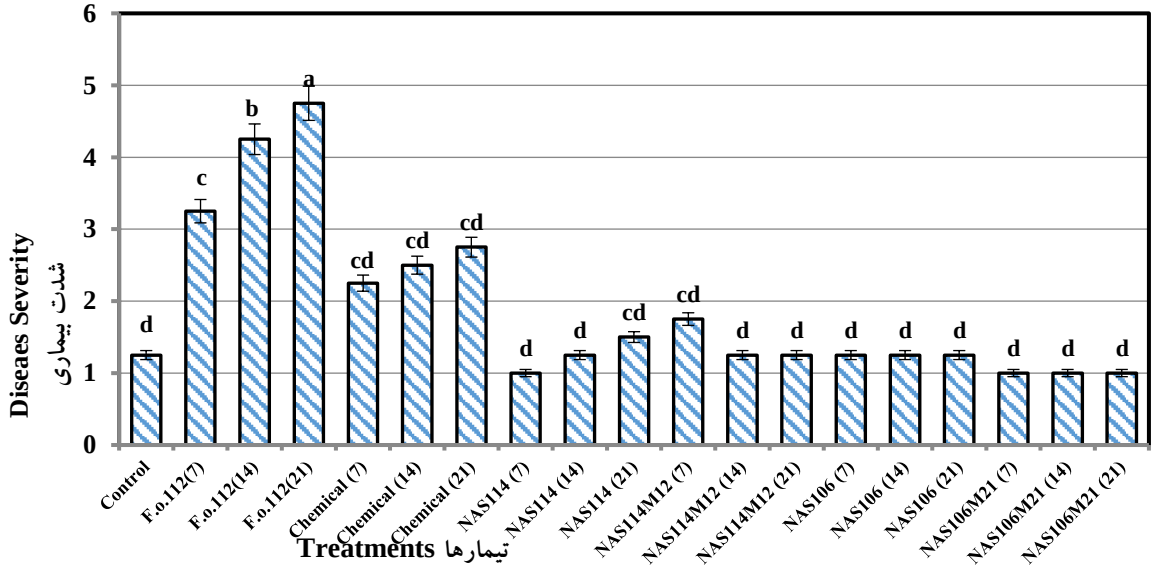

Figure 3. Comparison of *Fusarium* disease severity on Liberty White carnation in greenhouse conditions in different treatments: Control: control (without pathogen), F.o. 112 (7): disease severity on 7th day, F.o. 112 (14): disease severity on 14th day, F.o. 112 (21): disease severity on 21st day, Chemical (7): disease severity with chemical treatment on 7th day, Chemical (14) : disease severity with chemical treatment on 14th day, Chemical (21) : disease severity with chemical treatment on 21st day, NAS114 (7): disease severity with wild type NAS114 treatment on 7th day, NAS114 (14) : disease severity with wild type NAS114 treatment on 14th day, NAS114 (21): disease severity with wild type NAS114 treatment on 21st day, NAS114-M12 (7): disease severity with mutant isolate NAS114-M12 treatment on 7th day, NAS114-M12 (14): disease severity with mutant isolate NAS114-M12 treatment on 14th day,NAS114-M12 (21): disease severity with mutant isolate NAS114-M12 treatment on 21st day, NAS106 (7): disease severity with wild type NAS106 treatment on 7th day, NAS106 (14): disease severity with wild type NAS106 treatment on 14th day, NAS106 (21): disease severity with wild type NAS106 treatment on 21st day, NAS106-M21 (7): disease severity with mutant isolate NAS106-M21 treatment on 7th day, NAS106-M21 (14): disease severity with mutant isolate NAS106-M21 treatment on 14th day, NAS106-M21 (21): disease severity with mutant isolate NAS106-M21 treatment on 21st day.

شکل ۳- مقایسه شدت بیماری ناشی از فعالیت فوزاریوم روی میخک 'White Liberty' در شرایط گلخانه ای در تیمارهای مختلف: **Control**: شاهد (بدون بیمارگر)، **F.o. 112 (7)** :شدت بیماری در روز هفتم ، **F.o. 112 (14)**: شدت بیماری در روز چهاردهم ، **F.o. 112 (21)**شدت بیماری در روز بیست و یکم، **Chemical (7)**: شدت بیماری با کنترل شیمیایی در روز هفتم **Chemical (14)** : شدت بیماری با کنترل شیمیایی در روز چهاردهم **Chemical (21)**: شدت بیماری با کنترل شیمیایی در روز بیست و یکم ،**NAS114 (7)**: شدت بیماری با تریکودرمای والد **NAS114**در روز هفتم ،**NAS114 (14)** : شدت بیماری با تریکودرمای والد **NAS114**در روز چهاردهم ،**NAS114 (21)**: شدت بیماری با تریکودرمای والد **NAS114**در روز بیست و یکم ،**NAS114-M12 (7)**: شدت بیماری با تریکودرمای جهش‌یافته **NAS114-M12**در روز هفتم ،**NAS114-M12 (14)** : شدت بیماری با تریکودرمای جهش‌یافته **NAS114-M12** در روز چهاردهم ،**NAS114-M12 (21)** : شدت بیماری با تریکودرمای جهش‌یافته **NAS114-M12** در روز بیست و یکم ، **NAS106 (7)**: شدت بیماری با تریکودرمای والد **NAS106**در روز هفتم ،**NAS106 (14)** : شدت بیماری با تریکودرمای والد **NAS106**در روز چهاردهم ،**NAS106 (21)** : شدت بیماری با تریکودرمای والد **NAS106**در روز بیست و یکم ،**NAS106-M21(7)** : شدت بیماری با تریکودرمای جهش‌یافته **NAS106-M21**در روز هفتم ،**NAS106-M21(14)** : شدت بیماری با تریکودرمای جهش‌یافته **NAS106-M21**در روز چهاردهم ،**NAS106-M21(21)** : شدت بیماری با تریکودرمای جهش‌یافته **NAS106-M21**در روز بیست و یکم.

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

بررسی واکنش فیزیولوژیک قلمه‌های میخک به عوامل زیستی

نتایج پژوهش کنونی حاکی از تغییر معنی‌دار در محتوی پروتئین کل برگ‌های گل میخک آلوده شده به عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112 و مایه‌زنی شده با جدایه‌های *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114 والد و جهش‌یافته NAS106-M21 و NAS114-M12 بود. تغییر محتوی پروتئین کل برگ‌ها وابسته به زمان بود و با گذشت زمان در برگ‌های آلوده شده با عامل قارچ و مایه‌زنی شده با جدایه‌های *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114 والد و جهش‌یافته NAS106-M21 و NAS114-M12 افزایش در محتوی پروتئین کل مشاهده شد (شکل ۴). بالاترین محتوی پروتئین کل در برگ‌های میخک آلوده شده و مایه‌زنی شده با ترکیبی از جدایه‌های *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114 والد در روز ۲۱ مشاهده شد. پایین‌ترین میزان پروتئین کل در گیاهان آلوده شده با عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112 و مایه‌زنی نشده با سویه‌های تریکودرما مشاهده شد. از این رو، به نظر می‌رسد که ترکیبی از جدایه‌های *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114 والد و جهش‌یافته NAS106-M21 و NAS114-M12 در افزایش محتوی پروتئین کل برگ‌ها در میخک آلوده شده به عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112 مؤثر است.

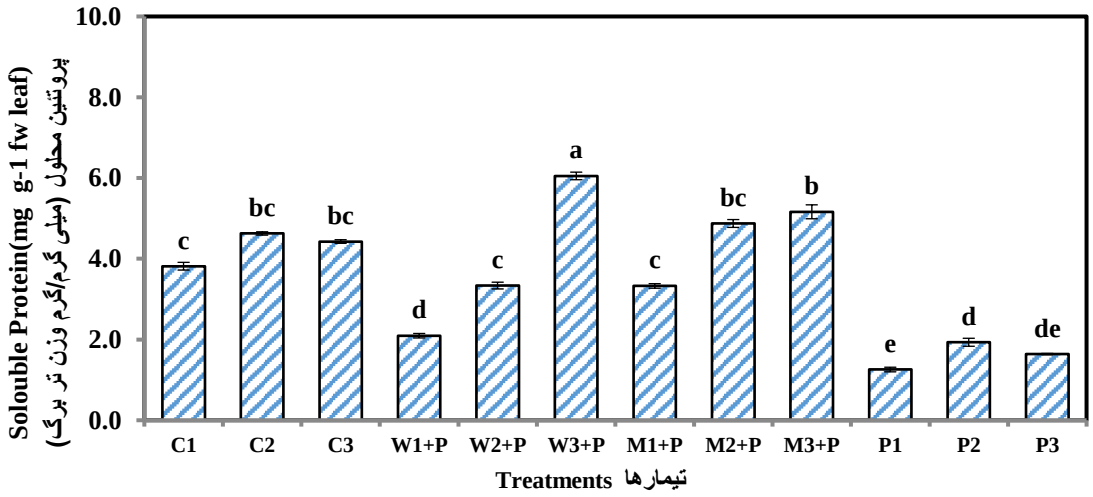

Figure 4. The soluble protein content (mg of protein per gram of plant fresh weight) in carnation leaves treated with various bio-control agents: C1,2,3 control plants on days 7, 14 and 21 respectively; W1, 2, 3 + P: carnation plants infected with *F. oxysporum* N112 and inoculated with a combination of NAS106 and NAS114 wild type on days 7, 14 and 21 respectively; M1,2,3 + P: carnation plants infected with *F. oxysporum* N112 and inoculated with a combination of NAS106-M21 and NAS114-M12 mutant isolates on days 7, 14 and 21 respectively; P1,2,3: plants infected with *F. oxysporum* N112 on days 7, 14 and 21 respectively.

شکل ۴. مقادیر پروتئین محلول (میلی گرم پروتئین به ازای هر گرم وزن تر گیاه) در برگ میخک تیمارشده با عوامل مختلف کنترل زیستی C1,2,3 به ترتیب گیاهان کنترل در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱؛ W1, 2, 3+P به ترتیب گیاهان میخک آلوده شده با عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum N112* و مایه‌زنی شده با ترکیبی از جدایه‌های NAS106 و NAS114 والد در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱؛ M1, 2, 3+P: به ترتیب گیاهان میخک آلوده شده با عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112 و مایه‌زنی شده با ترکیبی از جدایه‌های NAS106-M21 و NAS114-M12جهش‌یافته در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱؛ P1, 2, 3 به ترتیب به ترتیب گیاهان آلوده شده با عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱.

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

سبزینه

کاهش شدید در محتوی سبزینه a، b و کل برگ‌های میخک پس از آلوده شدن با عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112 مشاهده شد. با این وجود، تلقیح گیاهان آلوده شده با ترکیبی از هر دو جدایه‌های *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114 والد و جهش‌یافته NAS106-M21 و NAS114-M12 نه تنها منجر به حفظ سبزینه a، b و کل شد، بلکه در برگ‌های مایه‌زنی شده با ترکیبی از جدایه‌های *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114 والد بیشترین محتوی سبزینه a، b و کل در روز ۲۱ پژوهش مشاهده شد (شکل ۵). این امر می‌تواند در پایان منجر به بهبود عملکرد گیاهان میخک و افزایش بهره‌وری آنها گردد.

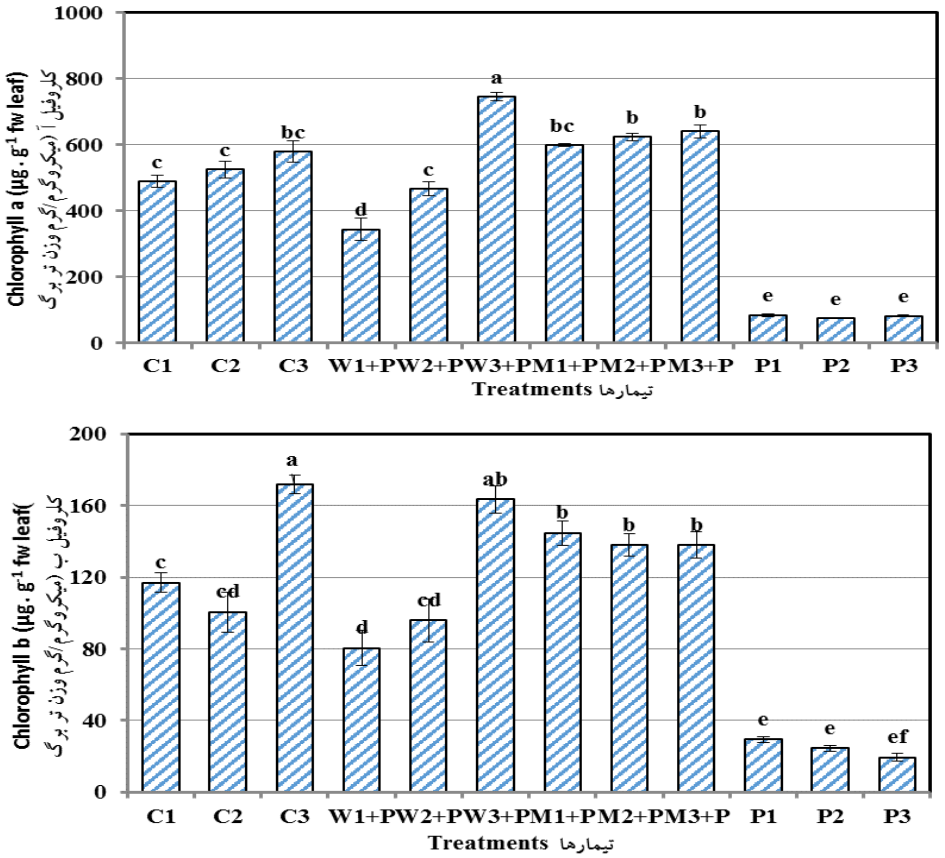

Figure 5. Content of chlorophyll a and chlorophyll b in carnation leaves infected with *F. oxysporum* and inoculated with *Trichoderma* species: C1,2,3: control plants on days 7, 14 and 21 respectively; W1,2,3 + P: Carnation plants infected with *F. oxysporum* N112 and inoculated with combination of wild type NAS106 and NAS114 isolates on days 7, 14 and 21 respectively; M1,2,3 + P: Carnation plants infected with *F. oxysporum* N112 and inoculated with a combination of NAS106-M21 and NAS114-M12 mutants isolates on days 7, 14 and 21 respectively; P1,2,3: plants infected with *F. oxysporum* N112 on days 7, 14 and 21 respectively.

شکل ۵. محتوای سبزینه آ و سبزینه ب در برگ‌های میخک آلوده شده با *F. oxysporum* N112 و مایه‌زنی شده با گونه‌های تریکودرما: C1,2,3: به ترتیب گیاهان کنترل در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱؛ W1,2,3+P: به ترتیب گیاهان میخک آلوده شده با عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112 و با ترکیبی از جدایه‌های NAS106 و NAS114 والد در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱؛ M1, 2, 3+P: به ترتیب گیاهان میخک آلوده شده با عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112 و مایه‌زنی شده با ترکیبی از جدایه‌های NAS106-M21 و NAS114-M12 جهش‌یافته در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱؛ P1, 2, 3: به ترتیب به ترتیب گیاهان آلوده شده با عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112 در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱.

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

کارتنوئید

محتوی کارتنوئید برگ‌ها تحت تأثیر تیمارهای مختلف با گذشت زمان قرار گرفت و بیشترین محتوی کارتنوئید برگ‌ها در گیاهان آلوده شده با عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112 و مایه‌زنی شده با ترکیبی از هر دو جدایه‌های *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114والد و جهش‌یافته در روز ۲۱ پژوهش مشاهده شد (شکل ۶). با این وجود، کمترین محتوی کارتنوئید برگ‌ها در گیاهان آلوده مشاهده شد که نشان می‌دهد بیماری پژمردگی فوزاریومی منجر به کاهش شدید در محتوی کارتنوئید برگ‌ها در میخک می‌گردد. با این وجود، گونه‌های تریکودرمای والد و جهش‌یافته اثرات محافظتی در برابر کاهش کارتنوئید برگ به واسطه عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112 دارند.

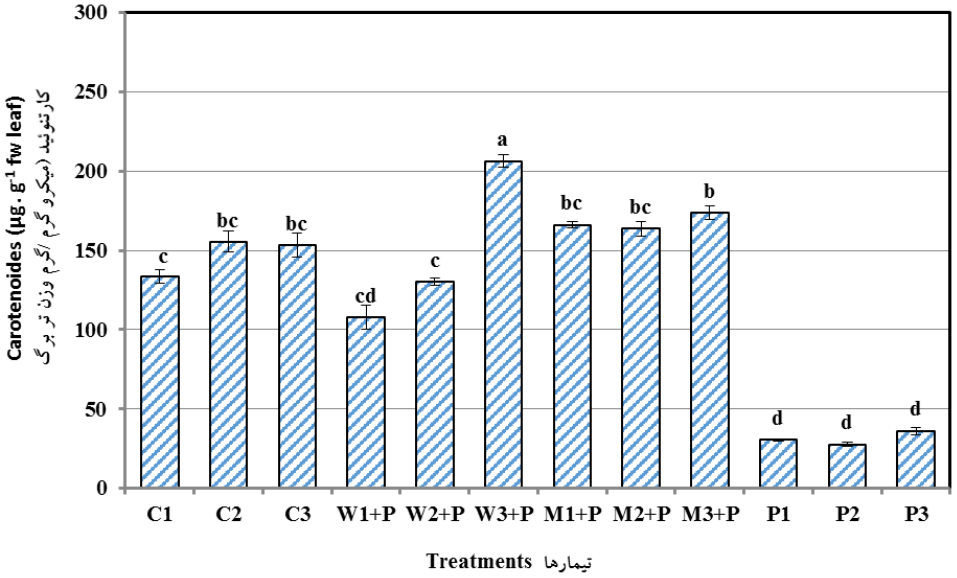

Figure 6. Carotenoids in carnation leaves infected with *F. oxysporum* N112 and inoculated with a combination of wild type isolates NAS106 and NAS114 and mutant NAS106-M21 and NAS114-M12: C1,2,3: control plants on days 7, 14 and 21 respectively; W1,2,3 + P: Carnation plants infected with *F. oxysporum* N112 and inoculated with a combination of wild type isolates NAS106 and NAS114 on days 7, 14 and 21 respectively; M1,2,3 + P: Carnation plants infected with *F. oxysporum* N112 and inoculated with a combination of NAS106-M21 and NAS114-M12 mutant isolates on days 7, 14 and 21 respectively; P1,2,3: plants infected with *F. oxysporum* N112 on days 7, 14 and 21 respectively.

شکل ۶. کارتنوئید برگ گیاهان میخک آلوده شده با عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112 و مایه‌زنی شده با ترکیبی از جدایه‌های NAS106 و NAS114 والد و جهش‌یافته NAS106-M21 و NAS114-M12:C1,2,3 : به ترتیب گیاهان کنترل در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱؛ W1,2,3+P : به ترتیب گیاهان میخک آلوده شده با عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112 و مایه‌زنی شده با ترکیبی از جدایه‌های NAS106 و NAS114 والد در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱؛ M1,2,3+P: به ترتیب گیاهان میخک آلوده شده با عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112 و مایه‌زنی شده با ترکیبی از جدایه‌های NAS106-M21 و NAS114-M12جهش‌یافته در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱؛ P1,2,3 : به ترتیب به ترتیب گیاهان آلوده شده با عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی

آلوده شدن گیاهان میخک با عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112 منجر به بیشترین فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز شد و این امر نشان دهنده پاسخ دفاعی گیاه در برابر بیمارگر *F. oxysporum* N112 می‌باشد. با این وجود،

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

تلقیح گیاهان با ترکیبی از جدایه‌های *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114والد و جهش‌یافته NAS107-M1 و NAS110-M8 سطح فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز مشابه با گیاهان شاهد را نشان داد که به نظر می‌رسد استفاده از گونه‌های تریکودرما در تیمارها از راه کنترل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112 فعال روی گیاهان میخک و کاهش اینوکولوم فعال بیمارگر که اختلال در عملکرد این آنزیم ها در میخک ایجاد می کند موجب کاهش تنش در گیاه شده که با بروز فعالیت آنزیمی مشابه با گیاه سالم این بازگشت به تعادل در شاخص های فیزیولوژیکی گیاه مشاهده شده است (شکل ۷).

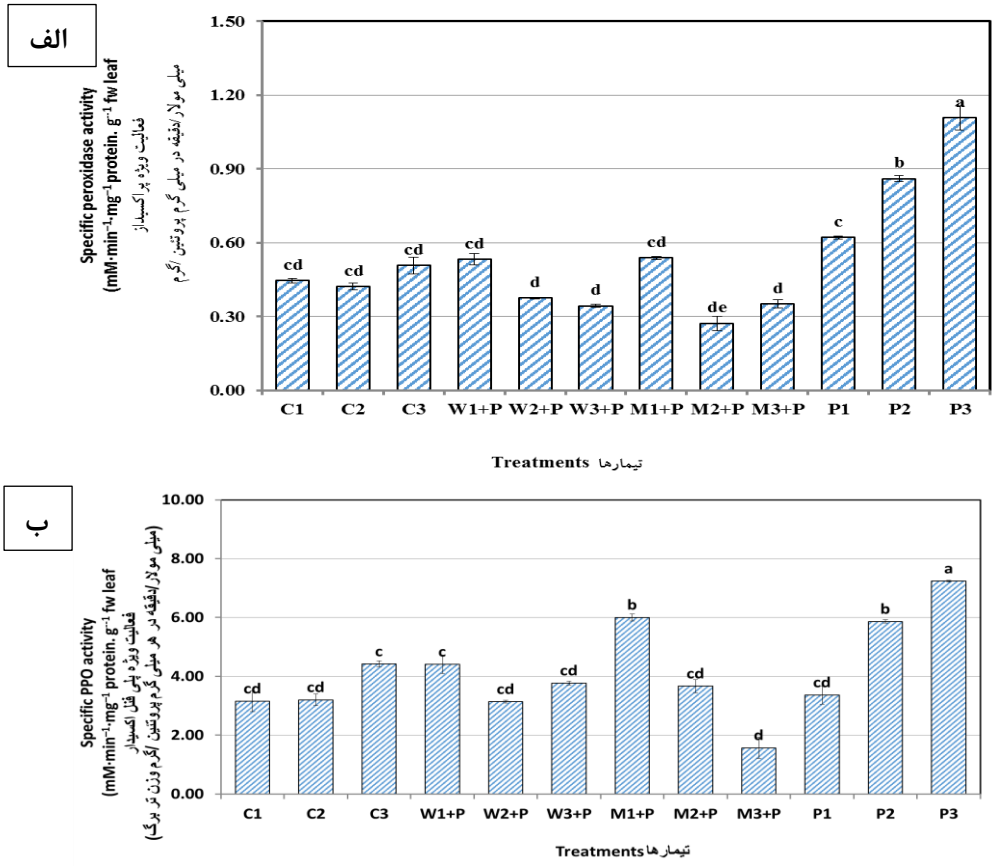

Figure 7. Peroxidase enzyme activity (A) and polyphenol oxidase enzyme activity (B) in the leaves of carnation plants infected with *F. oxysporum* N112 and inoculated with a combination of NAS106 and NAS114 wild type and NAS106-M21 and NAS114-M12 mutant isolates: C1,2,3 :control plants on days 7, 14 and 21 respectively; W1,2,3 + P :carnation plants infected with *F. oxysporum* N112 and inoculated with a combination of NAS106 and NAS114 wild type isolates on days 7, 14 and 21 respectively; M1,2,3 + P: Carnation plants infected with *F. oxysporum* N112 and inoculated with a combination of NAS106-M21 and NAS114-M12 mutant isolates on days 7, 14 and 21 respectively; P1,2,3: Carnation plants infected with *F. oxysporum* N112 on days 7, 14 and 21 respectively.

شکل ۷. فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز (الف) و پلی‌فنول اکسیداز (ب) در برگ گیاهان میخک آلوده شده با عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112 و مایه‌زنی شده با ترکیبی از جدایه‌های والد NAS106 و NAS114و جدایه‌های جهش‌یافته NAS106-M21 و NAS114-M12: C1,2,3: به ترتیب گیاهان کنترل در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱؛ W1,2,3+P: به ترتیب گیاهان میخک آلوده شده با عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112 و مایه‌زنی شده با ترکیبی از جدایه‌های والد NAS106 و NAS114در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱؛ M1,2,3+P: به ترتیب گیاهان میخک آلوده شده با عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112 و مایه‌زنی شده با ترکیبی از جدایه‌های NAS106-M21 و NAS114-M12جهش‌یافته در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱؛ P1, 2, 3 به ترتیب به ترتیب گیاهان آلوده شده با عامل قارچ فوزاریومی *F. oxysporum* N112در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱.

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

بحث

فوزاریوم از بیمارگرهای خاکبرد مهم است که دامنه گسترده‌ای از سویه‌های عامل پژمردگی بسیاری از گونه‌های گیاهی را دربر می‌گیرد (Dean *et al*., 2012). بیماری‌های ناشی از *F. oxysporum* باعث آسیب جدی در طول تولید محصولات مختلف می‌شوند (Gullino *et al*., 2015). کنترل بیمارگر و مدیریت بیماری تنها از راه رویکرد تلفیقی که در آن کنترل زیستی می‌تواند نقش محوری را ایفا کند، حاصل خواهد شد (Dean *et al*., 2012). از این رو، در پژوهش کنونی اثرات مهارکنندگی جدایه‌های *T. harzianum, T. viride, T. virens, T. koningii, T. atroviride* و جهش‌یافته‌های حاصل از آنها روی قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی میخک *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* در شرایط درون و برون شیشه‌ای مورد پژوهش قرار گرفت. نتایج نشان داد که جدایه‌های *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114 والد و جهش‌یافته NAS107-M1 و NAS110-M8 بالاترین توانایی جلوگیری از رشد جدایه پرآزار *F. oxysporum* N112 که بالاترین شدت نشانه‌ها را روی قلمه‌های میخک در گلخانه نشان داده بود، دارند. بررسی شاخص‌های فیزیولوژیکی همچون محتوی پروتئین کل، محتوی سبزینه a، سبزینه b و کاروتنوئید برگ گیاهان میخک آلوده شده با قارچ *F. oxysporum* N112 و تیمار شده با مخلوطی از جدایه‌های *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114والد و جهش‌یافته NAS106-M21 و NAS114-M12 حاکی از افزایش محتوی این شاخص‌ها در مقایسه با گیاهان دچار پژمردگی فوزاریومی (کنترل مثبت) با گذشت زمان بود. از سوی دیگر، کاهش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز در گیاهان میخک تیمار شده با جدایه‌های *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114والد و جهش‌یافته و همچنین آلوده شده با قارچ *F. oxysporum* N112 مشاهده شد که ممکن است از اثرات کنترل کنندگی جدایه‌های *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114والد و جهش‌یافته NAS106-M21 و NAS114-M12در برابر عامل پژمردگی فوزاریومی میخک باشد.

گونه‌های قارچ *تریکودرما* عوامل موثر کنترل زیستی در برابر بیماری‌های گیاهی ناشی از قارچ‌های خاکبرد هستند و در کنترل زیستی دامنه وسیعی از بیمارگرهای گیاهی به ویژه انواع *فوزاریوم* ها موفق عمل کرده اند (Rini & Sulochana, 2008). در پژوهش حاضر، جدایه‌های والد و جهش‌یافته از هر کدام گونه‌های *T.harzianum, T.viride, T.virens, T.koningii, T.atroviride* از نظر فعالیت ضد قارچی در برابر *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* مورد آزمایش قرار گرفتند. درجات مختلف آنتاگونیسم توسط این جدایه ها در برابر بیمارگردر آزمون کشت دوگانه مشاهده شد. در بین این جدایه‌های مورد آزمایش، جدایه‌های *T. koningii* NAS107 به طور قابل توجهی بالاترین درصد مهار میسلیوم را به میزان ۷۴٪ بر کنترل اعمال کرد و پس از آن *T. viride* NAS106 با ۵۳٪ قرار داشت. ارزیابی‌های کاربرد مخلوط گونه‌هایی از *تریکودرما* در برابر *F. oxysporum* f. sp *ciceri* نشان داده بود که اثر تجمعی مثبت *T. viride*و *T. harzianum* و *T.hamatum* با درصد مهار قارچ بیمارگر وجود دارد (Nikam *et al*., 2007). همچنین اثر *T. harzianum* علیه *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* نیز قبلا گزارش شده است(Pratibha, 2000).

قارچ‌های آنتاگونیست از جمله تریکودرما مستقیم یا غیرمستقیم علیه *F. oxysporum* عمل کرده و در نتیجه نمو آن را کاهش می‌دهند. مکانیسم عمل آن شامل مایکوپارازیتیسم، رقابت برای مواد مغذی یا پردازه‌های اکولوژیکی و ایجاد واکنش‌های دفاعی گیاهان است. مایکوپارازیتیسم به عنوان انگلی شدن قارچ توسط قارچ دیگر تعریف می‌شود. این امر با گسترش اندام‌های ویژه

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

همچون هاستوریا[۱] و ساخت آنزیم‌ها یا متابولیت‌های ثانویه انجام می‌شود تا در پایان اجازه جذب مواد مغذی از قارچ بیماری‌زا را بدهد (Daguerre *et al*., 2014). برخی از سویه های تریکودرما به دلیل توانایی مایکوپارازیتی آنها روی هیف *F. oxysporum* معروف هستند (John *et al*., 2010). بنابراین، کاهش رشد قارچ‌های عامل پژمردگی فوزاریومی توسط جدایه‌های *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114والد و جهش‌یافته NAS106-M21 و NAS114-M12 می‌تواند به مایکوپارازیتیسم قارچ تریکودرما نسبت داده شود.

در پژوهش کنونی، پارامترهای مختلف زیست‌شیمیایی تنش اکسایشی همچون فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز طی برهمکنش‌های مختلف بیمارگر-تریکودرما-گیاه مورد پژوهش قرار گرفت و نتایج حاکی از افزایش فعالیت هر دو آنزیم در شرایط آلودگی میخک به قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی بود. با این وجود، تیمار *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114 والد و NAS106-M21 و NAS114-M12 جهش‌یافته بدون حضور بیمارگر منجر به کاهش فعالیت این آنزیم‌ها در هفته سوم نمونه برداری بود. افزایش فعالیت این آنزیم‌ها می‌تواند حاکی از شرایط تنش اکسایشی القا شده توسط قارچ *F. oxysporum* N112 باشد که گیاه برای مبارزه با آن، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی را افزایش می‌دهد. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که گیاه میخک در پاسخ به عفونت فوزاریومی تغییرات قابل توجهی را در وضعیت آنتی‌اکسیدانتی ایجاد می‌کند. گیاهان در پاسخ به تهاجم بیمارگر *فوزاریوم* تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) را افزایش می‌دهند (Rana *et al*., 2017). این پاسخ دفاع گیاه در برابر بیمارگر است که باعث تقویت دیواره یاخته‌ای از راه ایجاد اتصال عرضی لگنین با پروتئین‌ها می‌شود و برای بیمارگر سمی بوده و باعث واکنش‌های فوق حساسیت و مقاومت اکتسابی سیستماتیک در میزبان و مرگ بیمارگر می‌شود Santos-Rodríguez (*et al*., 2021). افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی نوعی واکنش سازگار محسوب شده و تولید آنزیم‌هایی همچون پراکسیداز، پلی‌فنول اکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز افزایش پیدا می‌کند و این آنزیم‌ها در سم‌زدایی رادیکال‌های آزاد تولید شده توسط برهمکنش گیاه-پاتوژن نقش مهمی را ایفا می‌کنند (Sundaramoorthy& Balabaskar, 2013). با این وجود، زمانی که در پژوهش کنونی گیاهان میخک مایه‌زنی شده با *F. oxysporum* N112 با قارچ‌های *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114 والد و جهش‌یافته مایه‌زنی شدند، کاهش در فعالیت این آنزیم‌ها با گذشت زمان مشاهده شد که ممکن است ناشی از مهار رشد قارچ *F. oxysporum* N112 توسط جدایه‌های جهش‌یافته *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114والد و NAS106-M21 و NAS114-M12موتانت باشد که منجر به کاهش تنش اکسایشی و در نتیجه کاهش فعالیت این آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی شده است. نتایج پژوهش کنونی حاکی از افزایش محتوی پروتئین کل برگ‌های گیاه میخک سه هفته پس از مایه‌زنی بابیمارگرو جدایه‌های *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114والد و جهش‌یافته NAS106-M21 و NAS114-M12بود. القاء پاسخ‌های گیاهی در برابر حمله بیمارگر با تنظیم ترارسانی مسیرهای پیچیده تنظیم می‌شود و اینگونه پاسخ‌ها در افزایش سطح پروتئین کل با فعال شدن مکانیسم‌های دفاعی ارتباط دارد (Lavania *et al*., 2006). به نظر می‌رسد که جدایه‌های*T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114والد و جهش‌یافته NAS106-M21 و NAS114-M12 با اثرات آنتاگونیستی در برابر *F. oxysporum* N112 منجر به فعال شدن مسیرهای مختلف آنابولیستی و کاتابولیستی شده و این منجر به کاهش سطح نشاسته در اثر هیدرولیز و

۱- Haustoria

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

افزایش میزان ساکاروز گردد و احتمالا یک سری آنزیم‌های ضروری متابولیسمی را در پروتوپلاسم در داخل اندامک‌ها متراکم کند. در پژوهش کنونی نتایج حاکی از کاهش در سطوح سبزینه a، b، کل و کارتنوئید برگ‌ها پس از مایه‌زنی گیاه با *F. oxysporum* N112 بود. نتایج مشابهی در ارتباط با تنش زیستی در پژوهش‌ها دیگر گزارش شده است (Garavaglia *et al*., 2010). کاهش در محتوی سبزینه می‌تواند به فرایند سم‌زدایی ترکیبات حاصل ازبیمارگرنسبت داده شود. با این وجود، مایه‌زنی گیاهان آلوده شده به *F. oxysporum* N112 با جدایه‌های جهش‌یافته *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114والد و جهش‌یافته NAS106-M21 و NAS114-M12منجر به افزایش سطوح سبزینه و کاروتنوئید در برگ‌ها شد. این امر می‌تواند منجر به افزایش فتوسنتز در این گیاه منجر گردد.

نتیجه‌گیری

جدایه‌های جهش‌یافته *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114والد و NAS106-M21 و NAS114-M12 جهش‌یافته بالاترین توانایی بالایی در جلوگیری از رشد کلی جدایه پرآزار *F. oxysporum* N112 که بالاترین شدت نشانه‌ها را روی قلمه‌های میخک در گلخانه نشان داده بود، دارند. به نظر می‌رسد که این عوامل کنترل زیستی توانایی ایجاد تغییرات در شاخص‌های فیزیولوژیک گیاه برای چیرگی بر قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی در گیاه میخک را دارند. تغییرات در محتوی و نوع پروتئین‌ها، افزایش سطوح سبزینه، کاروتنوئید و کاهش در سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی همچون پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز در میخک از مکانیسم‌های عمل این قارچ در کاهش تنش انگیخته شده توسط قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی در میخک است. از این رو، کاربرد جدایه‌های جهش‌یافته *T. viride* NAS106 و *T. virens* NAS114 والد و NAS106-M21 و NAS114-M12 جهش‌یافته در برنامه‌های مبارزه با قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی در میخک توصیه می‌شود.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل از اجرای پروژه پژوهشی مصوب پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای با کد PRI-A3-98-002 تحت عنوان "کنترل خسارت بیماری های پژمردگی فوزاریومی میخک با استفاده از قارچ کش زیستی در گلخانه" بوده است و نویسندگان از همکاری و حمایت پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای- پژوهشکده کشاورزی هسته ای و اعضای گروه بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه پیام نور در اجرای این پروژه سپاسگزاری می نمایند.

منابع

Bradford, M.M., (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry, 72*, 248-254.

Daguerre, Y., Siegel, K., Edel-Hermann, V., Steinberg, C., (2014). Fungal proteins and genes associated with biocontrol mechanisms of soil-borne pathogens: a review. *Fungal Biology Reviews, 28*, 97-125.

De Gara, L., de Pinto, M.C., Tommasi, F., (2003). The antioxidant systems vis-à-vis reactive oxygen species during plant–pathogen interaction. *Plant Physiology and Biochemistry 41*, 863-870.

Dean, R., Van Kan, J.A., Pretorius, Z.A., Hammond-Kosack, K.E., Di Pietro, A., Spanu, P.D., Rudd, J.J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology, 13*, 414-430.

Dogan, S., Dogan, M., (2004). Determination of kinetic properties of polyphenol oxidase from Thymus (*Thymus longicaulis* subsp. chaubardii var. chaubardii). *Food Chemistry, 88*, 69-77.

Garavaglia, B.S., Thomas, L., Gottig, N., Dunger, G., Garofalo, C.G., Daurelio, L.D., Ndimba, B., Orellano, E.G., Gehring, C., Ottado, J., (2010). A eukaryotic-acquired gene by a biotrophic phytopathogen allows

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

prolonged survival on the host by counteracting the shut-down of plant photosynthesis. *PLoS One, 5*, 8950.

Gullino, M.L., Daughtrey, M.L., Garibaldi, A., Elmer, W.H., (2015). *Fusarium* wilts of ornamental crops and their management. *Crop Protection, 73*, 50-59.

Gupta, V., Misra, A., (2009). Efficacy of bioagents against Fusarium wilt of guava. J*ournal of Mycology and Plant Pathology*, *39*, 101.

Howell, C.R., (2006). Understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. *Phytopathology*, *96*, 178-180.

John, R.P., Tyagi, R.D., Prévost, D., Brar, S.K., Pouleur, S., Surampalli, R.Y., (2010). Mycoparasitic Trichoderma viride as a biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* f. sp. adzuki and *Pythium arrhenomanes* and as a growth promoter of soybean. *Crop Protection, 29*, 1452-1459.

Karimi, A., Rouhani H., Zafari, D., Khodakaramian G. and Taghinasab M., (2007). Biological control of carnation vascular wilt disease with *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthii* by strains of *Bacillus* and *Pseudomonas* isolated from rhizosphere, *Journal of Agricultural Science and Technology and Natural Resources*, *11*(41b), 309-319.

Khan, R.A., Najeeb, S., Hussain, S., Xie, B., Li, Y., (2020). Bioactive Secondary Metabolites from *Trichoderma* spp. against Phytopathogenic Fungi. *Microorganisms, , 8*(6), 817.

Lavania, M., Chauhan, P.S., Chauhan, S.V.S., Singh, H.B., Nautiyal, C.S., (2006). Induction of Plant Defense Enzymes and Phenolics by Treatment With Plant Growth–Promoting Rhizobacteria Serratia marcescens NBRI1213. *Current Microbiology, 52*, 363-368.

Leslie, J.F., Summerell, B.A., (2008). The *Fusarium* laboratory manual. In: John Wiley & Sons(ed.) Media recipis and preparatin. First Edition. Wiley, New York, pp 5-11.

Lori, G., Edel-Hermann, V., Gautheron, N. and Alabouvette, C., (2004). Genetic diversity of pathogenic and nonpathogenic populations of *Fusarium oxysporum* isolated from carnation fields in Argentina. *Phytopathology*, *94*(6), 661-668.

Lu, S., Su, W., Li, H., Guo, Z., (2009). Abscisic acid improves drought tolerance of triploid bermudagrass and involves H2O2- and NO-induced antioxidant enzyme activities. *Plant Physiology and Biochemistry, 47*, 132-138.

Mika, A., Luthje, S., (2003). Properties of guaiacol peroxidase activities isolated from corn root plasma membranes. *Plant Physiology, 132*, 1489-1498.

Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P., Hens, L., (2016). Chemical pesticides and human health: the urgent need for a new concept in agriculture. *Frontiers in Public Health, 4*, 148.

Nikam, P., Jagtap, G., Sontakke, P., (2007). Management of chickpea wilt caused byFusarium oxysporium f. sp. ciceri. *African Journal of Agricultural Research, 2*, 692-697.

Pratibha, S., (2000). An integrated approach for the management of carnation wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* (Pril. and Del.) Snyd. and Hans. *New Botanist, 27*, 143-150.

Rana, A., Sahgal, M., Johri, B.N., (2017). *Fusarium oxysporum:* Genomics, Diversity and Plant–Host Interaction, in: Satyanarayana, T., Deshmukh, S.K., Johri, B.N. (Eds.), Developments in Fungal Biology and Applied Mycology. Springer Singapore, Singapore, pp. 159-199.

Rini, C., Sulochana, K., (2008). Usefulness of Trichoderma and Pseudomonas against Rhizoctonia solani and Fusarium oxysporum infecting tomato. *Journal of Tropical Agriculture, 45*, 21-28.

Ros, M., Pascual, J., (2011). Mycoparasitism-related genes expression of Trichoderma harzianum isolates to evaluate their efficacy as biological control agent. *Biological Control*, 56(1), 59-66.

Santos-Rodríguez, J., Coy-Barrera, E., Ardila, H.D., (2021). Mycelium dispersion from *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* elicits a reduction of wilt severity and influences phenolic profiles of carnation (*Dianthus caryophyllus* L.) roots. *Plants, 10*, 1447.

Soufi, E., Safaie, N., Shahbazi, S., Mojerlou, S., (2021). Gamma irradiation induces genetic variation and boosting antagonism in *Trichoderma aureoviride*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection, 54*(19-20), 1649-1674.

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

Sundaramoorthy, S., Balabaskar, P., (2013). Biocontrol efficacy of *Trichoderma* spp. against wilt of tomato caused by Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici. *Journal of Applied Biology & Biotechnology, 1*, 36-40.

Shahbazi, S., Zaker Tavallaie, F., Daroodi, Z., (2021). Morphological and molecular identification of Fusarium spp. associated with carnation *Dianthus caryophyllus* in Mahallat, Iran. *Journal of Crop Protection, 10*(3), 461-471.

Younesi, P., Raushit, A. M., Etebarian H. R., (2013). The mutual effect of plant nutrition and Fusarium wilt disease of cucumber caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*, *New Research in Plant Pathology*, *6*(3), 297-308 (In persian).

Zaker Tavallaie, F., Shahbazi, S., Daroodi, Z. (2022). Effective biological control of carnation Fusarium wilt using a new combination of *Trichoderma* mutant isolates. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *24*(6), 1501-12517.

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]

Flower and Ornamental Plants (2023), 7(2): 329-348
Research article
DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329

Comparison of the physiological effects of wild and mutated biological agents of *Trichoderma* spp. against *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* in carnation 'White Liberty'

Shima Heidarpour[1], Samira Shahbazi*[2], Razieh Sarabadani[1], Hamed Askari[2]

1. Department of Biotechnology, Payam-e-Noor University, Tehran, Iran
2. Nuclear Agricultural Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute (NSTRI), Atomic Energy Organization of Iran (AEOI), Karaj, Iran.

samira.shahbazi.aeoi@gmail.com

Recieved: 2021/09/28, Revised: 2023/01/04, Accepted: 2023/01/07

Abstract

Carnation is an important ornamental plant and *Fusarium oxysporum* f.sp. *dianthi* is the causal agent of Fusarium wilt of carnation, causes a lot of damage to carnation growers. The aim of the present study was to investigate the response of carnation plants infected with *F. oxysporum* f.sp. *dianthi* and inoculated with *Trichoderma* (wild and mutant) on some physiological and enzymatic parameters related to resistance against pathogen. After isolating and identification of the pathogens and studying their pathogenicity, *F. oxysporum N112* was selected as the virulent strain. *Trichoderma* isolates were prepared from the fungal collection of the Nuclear Agriculture Research Institute and their *in vitro* ability to inhibit growth against *F. oxysporum N112* was studied. The reduction of disease incidence due to treatment with selected *Trichoderma* on carnation ' White Liberty' in the greenhouse condition was investigated. The content of total protein, chlorophyll a and b, carotenoids as well as the activity of peroxidase and polyphenol oxidase enzymes in leaf samples were studied on days 7, 14 and 21. The results showed a decrease in the production of total protein, chlorophyll (a, b) and carotenoids in infected plants and an increase in the activity of peroxidase and polyphenol oxidase enzymes led to accumulation of free radicals in leaf tissue. While the plants inoculated with *Trichoderma* led to increase the content of total protein, chlorophyll (a, b) and carotenoids and prevented the accumulation of free radicals, it may related to reducing the accumulation of peroxidase and polyphenol oxidase enzymes in the carnation plant infected with *Fusarum fusarum.* f.sp. *dianthi*. On the other hand, treatment with mutant *Trichoderma* (NAS106-M21 and NAS114-M12) had more influence on the progression of the disease than wild isolates 21 days after disease infection, which was due to the effect of treatment with mutant *Trichoderma* in reducing cellular oxidation in the infected plant. The results showed that NAS106-M21 and NAS114-M12, in addition to higher antagonistic activity than the wild isolates (*T. viride NAS106* and *T. virens (NAS114)*), through a greater effect on the cellular oxidation balance could be a more effective biocontrol agent in the integrated program to combat carnation Fusarium wilt.

Keywords: *Dianthus caryophyllus*, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma*, Biocontrol, Gamma irradiation.

[Downloaded from flowerjournal.ir on 2026-11-29]

[DOI: 10.61186/flowerjournal.7.2.329]