

## بررسی اثر برخی عوامل زنده و غیر زنده القا کننده مقاومت بر فعالیت آنزیمی و فاکتورهای رشدی لوبیا در حضور ویروس موزاییک زرد لوبیا

محمد زارعی<sup>۱</sup>، احمد حسینی\*<sup>۲</sup> و روح الله صابری ریشه<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد رشته بیماری‌شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان.

۲. استادیار گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان.

۳. دانشیار گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۲۵)

### چکیده

ویروس موزاییک زرد لوبیا (BYMV) متعلق به جنس پوتی ویروس (Potyvirus)، قادر به آلوده کردن طیف وسیعی از گیاهان می‌باشد. این ویروس از طریق مکانیکی و شته به صورت ناپایا انتقال می‌یابد. در این پژوهش تاثیر شش تیمار شامل نانو ذرات نقره سنتز شده توسط سویه *P. fluorescens* CHA0 باکتری *T. harizianum*، قارچ *P. fluorescens* سویه ۶۲، عصاره الکلی گیاهان زیتون (*Olea europaea*) و بومادران (*Achillea millefolium*) و فسفیت پتاسیم در کاهش خسارت یک سویه *BYMV* در سه ژنوتیپ لوبیا (KS21189، اختر و پاک) مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای انجام این پژوهش ابتدا گیاهان به صورت مکانیکی با یک سویه *BYMV* مایه‌زنی شدند. همزمان با ظهور علائم ویروسی، تیمارهای مختلف روی گیاهان اعمال شد. غلظت ویروس در گیاهان تیمار شده با آزمون DAS-ELISA و بهره‌گیری از آنتی‌سرم چندمسانه ای *BYMV* مورد ارزیابی قرار گرفت. ارزیابی پارامترهای رویشی و زایشی، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز و غلظت ویروس در سه ژنوتیپ لوبیا نسبت به *BYMV* نشان داد که بیشترین تاثیر بر کاهش غلظت ویروس موزاییک زرد لوبیا، مربوط به تیمارهای فسفیت پتاسیم، عصاره الکلی بومادران و باکتری *Pseudomonas fluorescens* CHA0 بوده است.

**واژه‌های کلیدی:** ویروس موزاییک زرد لوبیا، مقاومت القایی، باکتری *P. fluorescens*، تریکودرما و فسفیت پتاسیم.

### Study of Effect of some biotic and abiotic treatments inducing resistance on enzymatic activity and growth factors in common bean infected with *Bean yellow mosaic virus*

Mohammad Zareei<sup>1</sup>, Ahmad Hosseini\*<sup>2</sup> and Roohallah Saberi-Riseh<sup>3</sup>

1. MSc student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Iran.

3. Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Iran

(Received: March 15, 2020 - Accepted: November 15, 2020)

### ABSTRACT

*Bean yellow mosaic virus* (BYMV) which belongs to *Potyvirus* genus, is able to infect wide range of plants because of its wide host range. This virus is transmitted by mechanical inoculation and aphid vectors in non-persistent manner. In this research the effects of six treatments including: synthesized silver nano particles of *P. fluorescens* CHA0, preparations of *T. harizianum* and *P. fluorescens* CHA0, olive (*Olea europaea*) and yarrow (*Achillea millefolium*) extracts and potassium phosphite on damage reduction in three common bean genotypes against a BYMV isolate was investigated. This experiment was carried out in a completely randomized factorial design. For this purpose, treatments were applied on plants immediately afterward first symptoms in mechanically inoculated plants were appeared. Virus concentration in treated plants was evaluated by DAS-ELISA test using BYMV polyclonal antibody. Evaluation of vegetative and reproductive parameters, measurement of peroxidase and polyphenol oxidase enzymes activity and virus accumulation indicated that potassium phosphite, silver nano particles of *P. fluorescens* CHA0 and yarrow extracts had highest influence on virus accumulation.

**Keywords:** *Bean yellow mosaic virus*, Trichoderma, Potassium phosphite and Induced resistance.

\* Corresponding author E-mail: hosseini@vru.ac.ir

### تازه های تحقیق

با وجود آنکه مطالعات معدودی در مورد اثر برخی عوامل زنده و غیرزنده بر ایجاد مقاومت القایی در گیاهان در برابر برخی بیمارگرهای ویروسی صورت گرفته است، در مورد ویروس موزاییک زرد لوبیا که یکی از مخربترین بیماری های ویروسی و دارای دامنه میزبانی وسیعی است، گزارشهای اندکی در این زمینه به چشم می خورد. در پژوهش حاضر اثر ضدویروسی و القا کنندگی تیمارها و ترکیبات مختلفی مانند دو عصاره ی الکلی بومادران و زیتون، باکتری *Pseudomonas fluorescence* CHA0، نانوذرات نقره تولید شده توسط باکتری *P. fluorescence* CHA0 و ترکیب شیمیایی فسفیت پتاسیم در جهت کنترل ویروس های BYMV در سه ژنوتیپ لوبیا مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفته است.

### مقدمه

حبوبات پس از غلات، دومین منبع مهم غذایی محسوب می شوند (Rebetzke et al. 2006). در بین حبوبات، لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) با تولید بیش از ۲۰ میلیون تن مقام اول جهان را دارا است (Keshavarznia et al. 2013). ویروس موزاییک زرد لوبیا (*Bean yellow mosaic virus*, BYMV) که به عنوان یکی از شایع ترین و مخربترین بیماری های ویروسی در مزارع لوبیا مطرح می باشد دارای دامنه میزبانی وسیعی است (Hammond and Hammond 2003) و به روش مکانیکی و نیز توسط شته ها منتقل می شود. از علائم ایجاد شده این ویروس بر روی لوبیا می توان به ایجاد لکه های موزاییک در برگ ها، لکه های موضعی بافت مرده یا سبز زرد و بدشکلی غلاف اشاره کرد (Hampton et al. 2005). بررسی ها نشان می دهد که برخی عوامل زنده و غیرزنده از طریق ایجاد مقاومت القایی می توانند باعث حفاظت گیاهان در برابر بسیاری از بیمارگرهای گیاهی از جمله ویروس ها شوند. میکروارگانیسم هایی که در محدوده ریزوسفر زندگی می کنند مانند باکتری *P. fluorescence* CHA0 و قارچ *Trichoderma*

می توانند با تولید متابولیت هایی هم چون اکسین، سیدروفور و دیگر متابولت های ثانویه، تقویت رشد گیاه را سبب شوند و از طریق مکانیسم هایی از جمله رقابت، آنتی بیوز، پارازیتسم و القای مقاومت در کاهش خسارت بیمارگرهای گیاهی نقش موثری را ایفا کنند (Tilak et al. 2005). برخی از ترکیبات شیمیایی از جمله ترکیبات القاء کننده سیستم های دفاعی گیاهان وجود دارند که برای کاهش خسارت های ناشی از عوامل بیمارگر به کار برده می شوند که از میان آنها می توان به فسفیت پتاسیم اشاره کرد (Guest and Grant 1991). وانگ و همکاران در سال ۲۰۰۹، کاهش شدت بیماری ویروس موزاییک تنباکو (TMV) در شرایط گلخانه را به افزایش بیان ژن های دخیل در ایجاد مقاومت سیستمیک (ISR) مرتبط دانستند (Wang et al. 2009). به تازگی، متابولیت های ثانویه گیاهان دارویی مانند اسانس ها و عصاره های گیاهی نیز برای محدود کردن خسارت ناشی از عوامل بیمارگر مورد توجه قرار گرفته اند (Tepe et al. 2004). یکی دیگر از نویدبخش ترین راهکارها در جهت توسعه داروهای ضدویروسی مسدود کردن ورود ویروس به سلول میزبان می باشد (Melby and Dimitrov 2004). از لحاظ تئوری می توان هر فلزی را برای فعالیت ضدویروسی مورد بررسی قرار داد. هر چند که تلاش های کمی به منظور بررسی تعامل نانوذرات با ویروس ها انجام شده است، به تازگی در برخی از مطالعات نشان داده شده که نانوذرات فلزی می توانند به عنوان عوامل ضدویروسی موثر علیه برخی ویروس های انسانی مانند هپاتیت B و آنفلانزا کاربرد داشته باشند (Speshock et al. 2010). از آنجاییکه بیشتر مطالعات انجام شده در مورد ویروس های مختلف گیاهی در جهت تشخیص و شناسایی عوامل ویروسی می باشد. هدف از انجام این پژوهش تلاش برای بررسی و ارزیابی اثرات ضدویروسی و القاء مقاومت دو عصاره ی الکلی از گیاه بومادران و زیتون، ارزیابی ایجاد مقاومت القایی به وسیله ی باکتری *Pseudomonas fluorescence* CHA0، بررسی امکان ایجاد مقاومت القایی به وسیله ترکیبات شیمیایی

سویه باکتری یاد شده در محیط کشت (Luria-LB Bertani) کشت داده شد و به مدت ۶۴ ساعت بر روی شیکر انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سلسیوس و (revolutions per minute) ۱۵۰ rpm نگهداری گردید، سپس با دور ۲۰۰۰ rpm به مدت شش دقیقه سانتریفوژ شده و مایع رویی حاصل از سانتریفوژ برای سنتز نانوذرات نقره استفاده گردید. به مایع رویی، محلول نیترات نقره با غلظت یک میلی مولار اضافه گردید و به مدت ۶۴ ساعت در دمای ۲۶ درجه سلسیوس انکوبه گردید. تولید نانوذرات نقره، در مرحله اول از نظر تغییر رنگ (تغییر رنگ محیط باکتری در مواجهه با محلول نیترات نقره از زرد کمرنگ به قهوه‌ای، تولید نانو ذرات نقره را نشان داد که این رنگ ثابت باقی می ماند) و سپس از لحاظ میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت (Kalishwaralal et al. 2008). عصاره گیاهان بومادران و زیتون با روش خیساندن قطعات رویشی گیاهان خشک شده در دمای ۴۵ درجه سلسیوس تهیه گردید. بدین منظور میزان ۱۰۰ گرم از بافت گیاهی خشک آسیاب شده و در ارلن ریخته شد. سپس مقدار ۳۰۰ میلی لیتر الکل اتیلیک ۸۰ درصد به آن‌ها اضافه گردید و به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه بر روی شیکر قرار داده شد. سپس محتویات درون ارلن با کاغذ صافی معمولی و با استفاده از دستگاه بوختر صاف گردید. سپس حلال به روش تقطیر در خلا و در دمای ۴۰ درجه سلسیوس با استفاده از دستگاه روتاری از عصاره جدا گردید. به منظور تعیین وزن خشک مواد استخراجی از دستگاه آون در دمای ۴۵ درجه سلسیوس استفاده گردید. ماده خشک شده درون فویل آلومینیومی و در دمای اتاق نگهداری شد.

#### اسپری کردن تیمارها

حدود ده روز بعد از مرحله مایه کوبی ویروس و همزمان با ظهور اولین علائم BYMV در ژنوتیپ‌های لوبیا (KS21189، قرمز اختر و سفید پاک)، گیاهان تحت تاثیر تیمارهای مختلف قرار گرفتند. سه تیمار

مانند فسفیت پتاسیم و همچنین تاثیر نانوذرات نقره تولید شده توسط باکتری *P. fluorescens* CHA0 جهت کنترل ویروس های BYMV در سه ژنوتیپ لوبیا بوده است.

#### مواد و روش‌ها

##### تکثیر سویه‌ی ویروسی

برای انجام این پژوهش یک سویه‌ی ویروس موزاییک زرد لوبیا با نام D1 از کلکسیون آزمایشگاه ویروس-شناسی دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان انتخاب شد و روی بوته‌های لوبیا به صورت مکانیکی مایه زنی شد. برای مایه زنی مکانیکی از بافر فسفات پتاسیم ۰/۰۵ مولار با pH = ۷ استفاده شد. گیاهان آلوده برای انجام آزمایشها در شرایط گلخانه‌ای مناسب (دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سلسیوس و دوره روشنایی ۱۶ ساعت) نگهداری شدند.

##### آماده سازی تیمارهای مورد استفاده

در این پژوهش از سویه *Pseudomonas fluorescens* CHA0 و سویه‌ی ۶۲ قارچ *Trichoderma harzianum* تهیه شده از کلکسیون کنترل بیولوژیک دانشگاه ولی عصر (عج)، استفاده گردید.

سویه‌ی قارچ خالص سازی شده روی محیط کشت *Potato Dextrose Agar* (PDA) کشت داده و به مدت چهار روز در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. همزمان با ظهور اسپورها، با استفاده از هموسیتومتر، غلظت  $10^6$  اسپور در میلی لیتر آب مقطر استریل تهیه شد. جدایه باکتریایی بر روی محیط *Nutrient agar* (NA) کشت داده شد و ۴۸ ساعت در انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سلسیوس قرار گرفت و جمعیت  $10^{10}$  cfu/ml از آن در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت.

به جز عوامل زنده، از نانوذرات نقره سنتز شده توسط باکتری *Pseudomonas fluorescens* سویه‌ی CHA0، فسفیت پتاسیم (یک در هزار) و عصاره گیاهان دارویی (زیتون و بومادران) نیز استفاده شد. برای بررسی سنتز آزمایشگاهی نانوذرات نقره، ابتدا

گردید.

### تجزیه و تحلیل آماری

این آزمایش در قالب فاکتوریل به صورت طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تجزیه آماری داده ها با استفاده از نرم افزار MSTATC انجام و نمودارها با نرم افزار Excel 2007 ترسیم گردیدند، مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت.

### نتیجه گیری

#### تکثیر سویه‌ی D1 و بررسی غلظت ویروس

بر اساس نتایج مشاهده شد که سویه‌ی BYMV در بوته‌های لوبیا مایه‌زنی شده بعد از گذشت پنج روز علائم لکه موضعی و پس از ۱۴ روز علائم موزاییک سیستمیک ایجاد کرد. برای اثبات تکثیر ویروس و اندازه‌گیری غلظت آن از آزمون داس الیزا استفاده گردید. نتایج نشان داد که آزمون الیزا به خوبی قادر به ردیابی ویروس در گیاهان مایه زنی شده بوده است و در عین حال غلظت ویروس در ژنوتیپ‌های KS21189، اختر و پاک مایه زنی شده با BYMV در مقایسه با گیاه شاهد تفاوت معنی داری داشته است. بالاترین میزان غلظت ویروس در ژنوتیپ KS21189 و پایین ترین میزان غلظت ویروس در ژنوتیپ پاک ثبت گردید. از طرف دیگر نتایج حاصل از مقایسه‌ی غلظت ویروس در گیاهان تیمار شده با عوامل بیولوژیکی و شیمیایی نشان داد که غلظت ویروس به‌طور کلی در تمام گیاهان تیمار شده با عوامل فوق، نسبت به گیاهان آلوده به BYMV به طور معنی‌داری کاهش یافته است.

در ژنوتیپ‌های اختر و پاک اختلاف معنی داری بین غلظت ویروس در تیمارهای مختلف و شاهد سالم مشاهده نشد. بیشترین میزان کاهش غلظت ویروس در ژنوتیپ اختر و پاک به ترتیب در اثر تیمار با باکتری سنتز کننده نانو ذرات نقره و سم فسفیت پتاسیم صورت گرفت. در ژنوتیپ KS21189 نیز تنها میزان غلظت ویروس در گیاهان تیمار شده با

عصاره الکلی بومادران، زیتون و فسفیت پتاسیم تهیه شده بر روی برگ‌ها اسپری شدند. سه تیمار دیگر به خاک افزوده شدند. قبل از اضافه کردن این سه تیمار میزان آب مصرفی گلدان‌ها اندازه‌گیری شد. به این صورت که ابتدا گلدان‌ها در حد اشباع آبیاری شدند. پس از خروج آب ثقل، گلدان‌ها در ظروف سر بسته پلاستیکی قرار گرفتند تا از تبخیر آب جلوگیری شود. پس از ۲۴ ساعت، آب خروجی از هر گلدان اندازه گیری و به همان اندازه سوسپانسیون باکتری سنتز کننده نانوذرات، قارچ *T. harzianum* ( $10^6$  cfu/ml) و سویه‌ی CHA0 باکتری *P. fluorescens* ( $10^{10}$  cfu/ml) تهیه شده به خاک گلدان‌ها اضافه گردید.

#### سنجش غلظت ویروس

بیست روز پس از تیمار گیاهان آلوده به BYMV، سنجش غلظت ویروس با داده های حاصل از روش DAS-ELISA و با استفاده از آنتی سرم های چند همسانه‌ای BYMV تهیه شده از موسسه DSMZ آلمان بر اساس دستورالعمل کلارک و آدامز انجام شد (Clark and Adams 1997). بعد از اتمام مراحل الیزا، میزان جذب نور هر یک از چاهک ها در طول موج ۴۰۵ نانومتر ۳۰ دقیقه پس از افزودن بافر سوبسترا، توسط دستگاه الیزا ریدر اندازه گیری شد. دو برابر میانگین جذب گیاه سالم به عنوان مثبت در نظر گرفته شد.

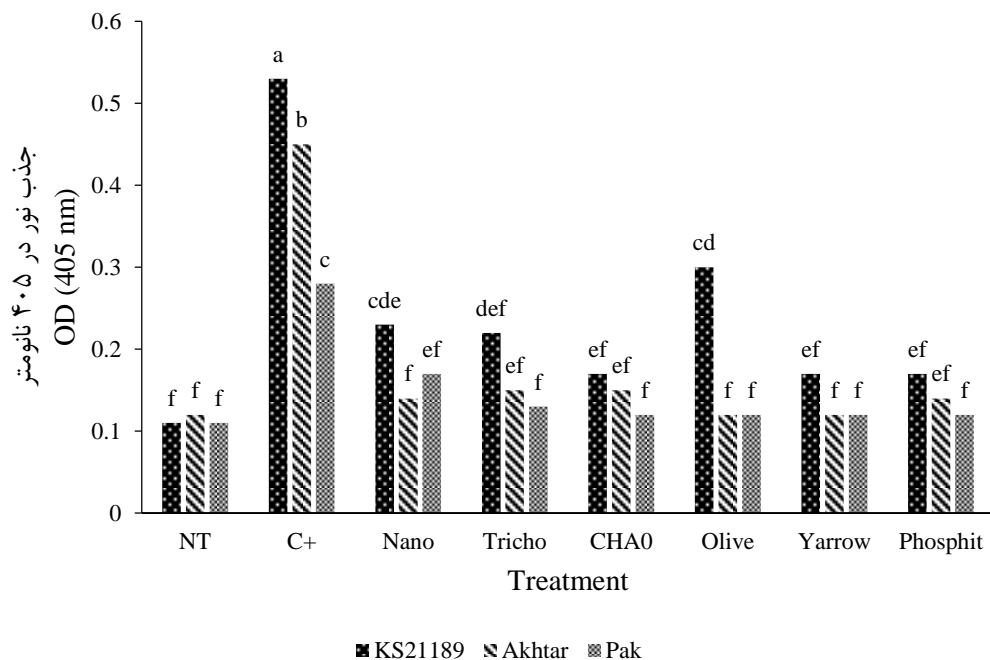
#### ارزیابی فعالیت آنزیم پراکسیداز

فعالیت آنزیم پراکسیداز در روز سوم و ششم پس از تیمار گیاهان، با استفاده از اسپکتروفتومتری بر اساس نرخ اولیه افزایش جذب در ۴۱۰ نانومتر و بر طبق روش ارائه شده توسط سولیوا و همکاران اندازه گیری شد (Soliva et al. 2000).

#### پارامترهای رویشی و زایشی

پارامترهای رویشی شامل ارتفاع ساقه، قطر ساقه، وزن تر ساقه و وزن تر ریشه و دو پارامتر زایشی شامل میزان محصول و میزان غلاف پوک لوبیا نیز محاسبه

زیتون و باکتری سنتز کننده نانو ذرات نقره با گیاه شاهد سالم اختلاف معنی دار داشتند (شکل ۱).



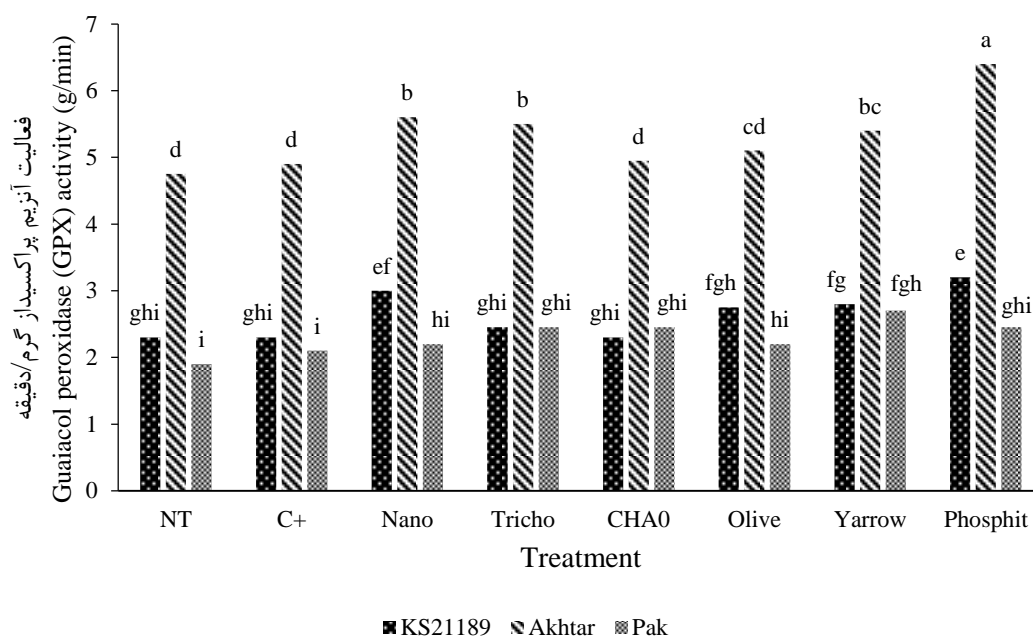
شکل ۱- بررسی اثر شش تیمار بر تکثیر BYMV در سه ژنوتیپ لوبیا (Nano: نانو ذرات نقره، Tricho: قارچ تریکودرما، CHA0: استرین باکتری سودوموناس، Olive: عصاره زیتون، Yarrow: عصاره بومادران، Phosphit: فسفیت پتاسیم، C<sup>+</sup>: گیاه آلوده و NT: گیاه سالم):

Figure 1 - Effect of six treatments on BYMV proliferation in three bean genotypes (Nano: Nano silver particles, Tricho: Trichoderma, CHA0: *pseudomonas fluorescens* strain, Olive: Olive extract, Yarrow: Yarrow extract, Phosphit: Potassium phosphite, C<sup>+</sup>: Infected plant, NT: Un infected plant)

CHA0 و عصاره الکلی گیاه زیتون نسبت به گیاهان آلوده اختلاف معنی داری مشاهده شد و بیشترین تاثیر مربوط به سم فسفیت پتاسیم بود. در ژنوتیپ پاک به جز گیاه تیمار شده با عصاره الکلی گیاه بومادران در بقیه تیمارها نسبت به گیاهان شاهد آلوده اختلاف معنی داری مشاهده نگردید (شکل ۲). نتایج بررسی میزان آنزیم پراکسیداز در روز ششم نیز تقریباً مشابه نتایج اندازه گیری آنزیم در مرحله اول بود و هیچ تفاوت معنی داری بین میزان پراکسیداز اندازه گیری شده در ژنوتیپ های مایه زنی شده با BYMV و تیمار شده با عوامل بیولوژیکی و شیمیایی مشاهده نگردید. اما برخلاف آنزیم مرحله اول، میزان آنزیم مرحله دوم در ژنوتیپ های مختلف KS21189، پاک و اختر تیمار شده با عوامل مختلف هیچ اختلاف معنی داری با گیاهان شاهد آلوده و سالم نداشت (شکل ۳).

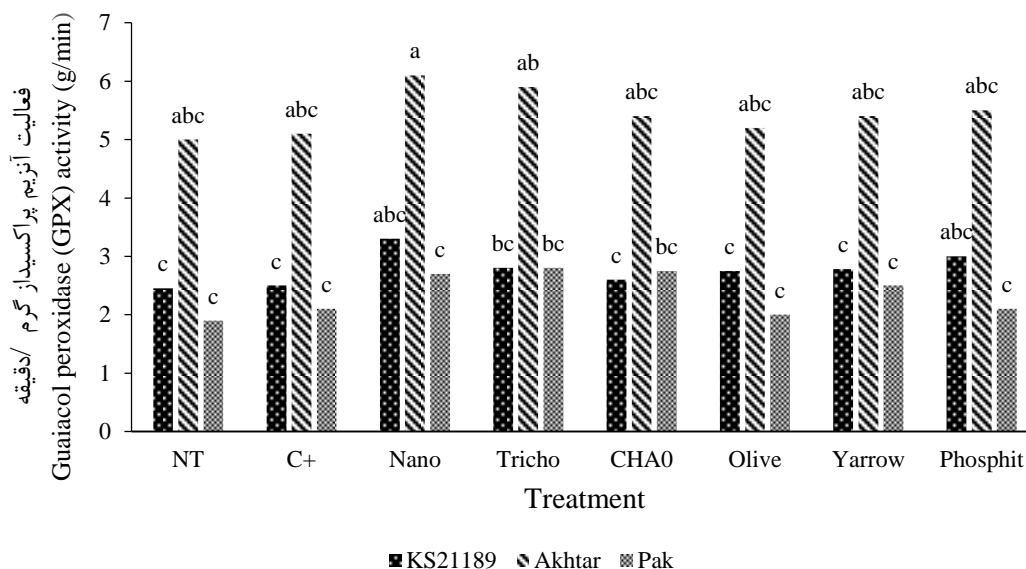
### بررسی میزان آنزیم پراکسیداز

نتایج به دست آمده از بررسی میزان تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز در روز سوم در برگ های مایه زنی شده با BYMV در ژنوتیپ های KS21189، اختر و پاک نشان داد که میزان فعالیت آنزیم مذکور در گیاهان آلوده به ویروس و گیاهان سالم دارای اختلاف معنی دار نیست، هرچند که به میزان کمی نسبت به گیاهان سالم افزایش می یابد. در مورد تاثیر تیمارهای اعمال شده بر روی ژنوتیپ KS21189 مایه زنی شده با BYMV نتایج نشان داد که کاهش میزان آنزیم در اکثر تیمارهای اعمال شده به جز باکتری سنتز کننده نانو ذرات نقره و سم فسفیت پتاسیم نسبت به گیاهان شاهد آلوده به صورت معنی دار مشاهده نشد. در مورد تاثیر تیمارهای اعمال شده بر روی ژنوتیپ اختر مایه زنی شده با BYMV میزان آنزیم در اکثر تیمارهای اعمال شده به جز در مورد تیمارهای *P. fluorescens*



شکل ۲- اثر شش تیمار بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (GPX) در سه ژنوتیپ لوبیای مایه زنی شده با BYMV در روز سوم پس از تلقیح (Nano: نانو ذرات نقره، Tricho: قارچ تریکودرما، CHA0: استرین باکتری سودوموناس، Olive: عصاره زیتون، Yarrow: عصاره بومادران، Phosphit: فسفیت پتاسیم، C<sup>+</sup>: گیاه آلوده و NT: گیاه سالم)

Figure 2 - Effect of six treatments on Guaiacol peroxidase (GPX) activity in three inoculated bean genotypes with BYMV three days after inoculation (Nano: Nano silver particles, Tricho: Trichoderma, CHA0: *pseudomonas fluorescens* strain, Olive: Olive extract, Yarrow: Yarrow extract, Phosphit: Potassium phosphite, C<sup>+</sup>: Infected plant, NT: Un infected plant)



شکل ۳- بررسی اثر شش تیمار بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (GPX) در سه ژنوتیپ لوبیای مایه زنی شده با BYMV در روز ششم پس از تلقیح (Nano: نانو ذرات نقره، Tricho: قارچ تریکودرما، CHA0: سویه باکتری سودوموناس، Olive: عصاره زیتون، Yarrow: عصاره بومادران، Phosphit: فسفیت پتاسیم، C<sup>+</sup>: گیاه آلوده و NT: گیاه سالم)

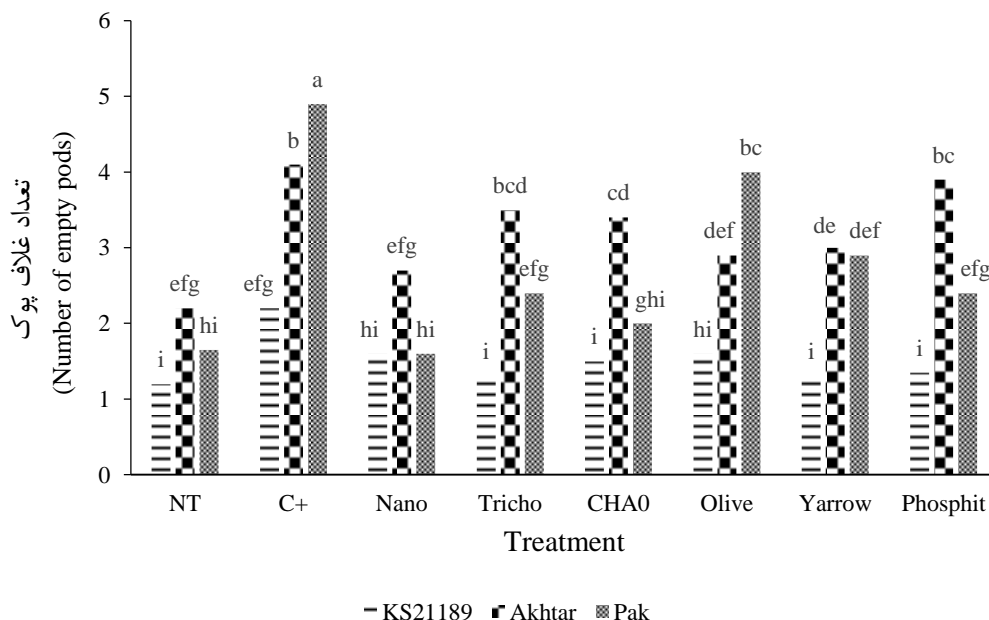
Figure 3- Effect of six treatments on Guaiacol peroxidase (GPX) activity in three inoculated bean genotypes with BYMV six days after inoculation (Nano: Nano silver particles, Tricho: Trichoderma, CHA0: *pseudomonas fluorescens* strain, Olive: Olive extract, Yarrow: Yarrow extract, Phosphit: Potassium phosphite, C<sup>+</sup>: Infected plant, NT: Un infected plant)



### بررسی پارامترهای زایشی

در تمام ژنوتیپ‌های آلوده نسبت به گیاهان شاهد سالم به طور معنی داری تعداد غلاف های پوک افزایش یافت. تعداد غلاف های پوک در اکثر تیمارها نسبت به گیاه آلوده به BYMV به طور معنی داری کاهش یافته است. در ژنوتیپ KS21189 مایه زنی شده با BYMV گرچه این اختلاف معنی دار مشاهده شد اما تیمارهای اعمال شده با هم و با شاهد سالم اختلاف معنی داری در تعداد غلاف پوک نداشتند. در ژنوتیپ اختر تیمارهای اعمال شده به جز تیمارهای *T. harizianum* و سم فسفیت پتاسیم، تعداد غلاف پوک نسبت به گیاهان شاهد آلوده اختلاف معنی داری نشان دادند. در میان تیمارهای اعمال شده، میزان غلاف در

گیاهان تیمار شده با نانوذرات، بومادران و زیتون نسبت به گیاهان شاهد سالم نیز اختلاف معنی داری مشاهده نگردید. بیشترین تعداد غلاف پوک مربوط به نانو ذرات نقره و کمترین میزان مربوط به تاثیر سم فسفیت پتاسیم بوده است. در مورد تاثیر تیمارهای اعمال شده بر روی ژنوتیپ پاک مایه زنی شده با ویروس BYMV، نتایج نشان داد که گیاهان تلقیح شده با تیمارهای مورد بررسی، نسبت به گیاهان شاهد آلوده اختلاف معنی داری نشان دادند و تنها گیاه تیمار شده با نانوذرات نقره با شاهد سالم اختلاف معنی دار نداشت. بیشترین و کمترین تعداد غلاف پوک به ترتیب مربوط به تیمارهای عصاره الکلی گیاه زیتون و باکتری سنتز کننده نانو ذرات نقره می باشد (شکل ۴).



شکل ۴- بررسی اثر شش تیمار بر تعداد غلاف پوک در سه ژنوتیپ لوبیای مایه زنی شده با BYMV (Nano: نانو ذرات نقره، Tricho: قارچ تریکودرما، CHA0: سویه باکتری سودوموناس، Olive: عصاره زیتون، Yarrow: عصاره بومادران، Phosphit: فسفیت پتاسیم، C<sup>+</sup>: گیاه آلوده و NT: گیاه سالم)

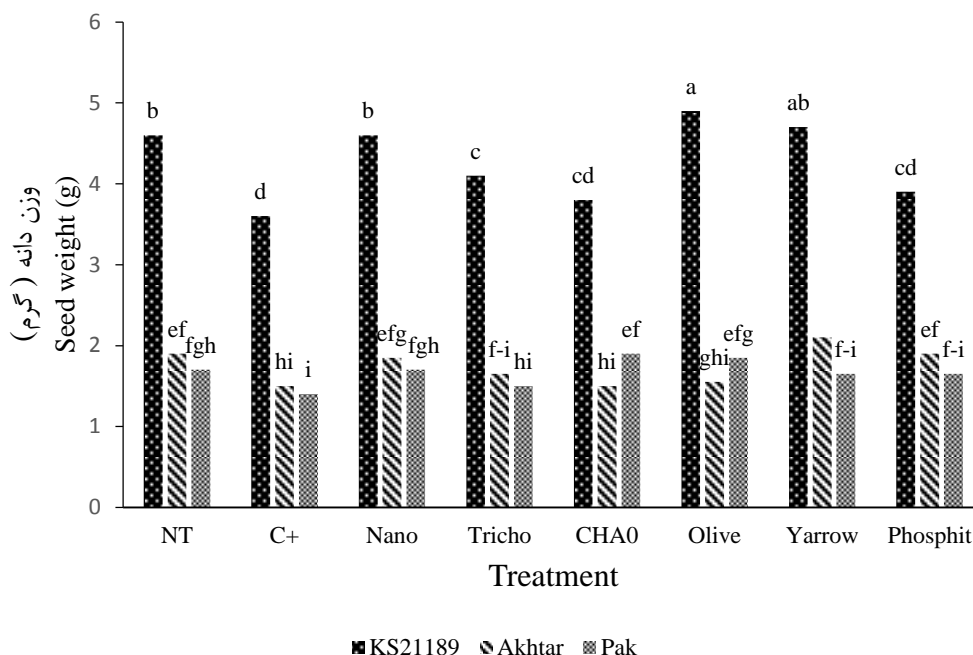
Figure 4 - Effect of six treatments on the number of empty pods in three inoculated bean genotypes with BYMV (Nano: Nano silver particles, Tricho: Trichoderma, CHA0: *pseudomonas fluorescens* strain, Olive: Olive extract, Yarrow: Yarrow extract, Phosphit: Potassium phosphite, C<sup>+</sup>: Infected plant, NT: Un infected plant)

است. نتایج حاصل از مقایسه میزان محصول در ژنوتیپ KS21189 مایه زنی شده با BYMV و تیمار شده با عوامل مورد بررسی نشان داد که به جز تیمار *P. fluorescens* CHA0 و سم فسفیت پتاسیم میزان

نتایج به دست آمده از بررسی میزان محصول در ژنوتیپ‌های KS، اختر و پاک تلقیح شده با BYMV نشان داد در تمام ژنوتیپ ها نسبت به گیاهان شاهد سالم به طور معنی داری میزان محصول کاهش یافته

در جبران خسارت ویروس بر روی میزان محصول داشتند، عصاره الکلی گیاه بومادران بهترین عامل تاثیر گذار بود. در مورد تاثیر تیمارهای اعمال شده بر روی ژنوتیپ پاک تلقیح شده با BYMV نتایج نشان داد که در تیمارهای باکتری سنتز کننده نانو ذرات نقره، عصاره الکلی گیاه زیتون و *P. fluorescens* CHA0 اختلاف معنی داری نسبت به شاهد آلوده مشاهده نشد. در مورد ژنوتیپ پاک بیشترین تاثیر مربوط به *P. fluorescens* CHA0 بود (شکل ۵).

محصول در بین تیمارهای اعمال شده نسبت به شاهد آلوده اختلاف معنی دار دارد و در گیاهان تیمار شده با بومادران و نانوذرات نقره، میزان محصول با شاهد آلوده اختلاف معنی داری نداشت. بنابراین این دو تیمار بهترین اثر را در جبران خسارت وارده توسط ویروس به میزان محصول داشتند. در ژنوتیپ اختر همه تیمارها به جز فسفیت، نانو و بومادران از نظر میزان محصول با شاهد آلوده اختلاف معنی دار نداشتند و در بین این سه تیمار که بیشترین تاثیر را



شکل ۵- بررسی اثر شش تیمار بر میزان محصول در سه ژنوتیپ لوبیای مایه زنی شده با BYMV (Nano: نانو ذرات نقره، Tricho: قارچ تریکودرما، CHA0: سویه باکتری سودوموناس، Olive: عصاره زیتون، Yarrow: عصاره بومادران، Phosphit: فسفیت پتاسیم، C<sup>+</sup>: گیاه آلوده و NT: گیاه سالم)

Figure 5- Effect of six treatments on the amount of product in three inoculated bean genotypes with BYMV (Nano: Nano silver particles, Tricho: Trichoderma, CHA0: *pseudomonas fluorescens* strain, Olive: Olive extract, Yarrow: Yarrow extract, Phosphit: Potassium phosphite, C<sup>+</sup>: Infected plant, NT: Un infected plant)

اختلاف معنی داری نشان داد. افزایش وزن تر ریشه گیاهان تیمار شده با عصاره زیتون و بومادران با گیاهان شاهد سالم اختلاف معنی داری نداشت. بیشترین وزن تر ریشه مربوط به عصاره الکلی گیاه زیتون بود. وزن تر ریشه در ژنوتیپ اختر مایه زنی شده با ویروس نیز در بین تیمارهای اعمال شده، نسبت به شاهد آلوده به صورت معنی داری افزایش یافت و بیشترین تاثیر مربوط به سم فسفیت پتاسیم

### بررسی پارامترهای رویشی

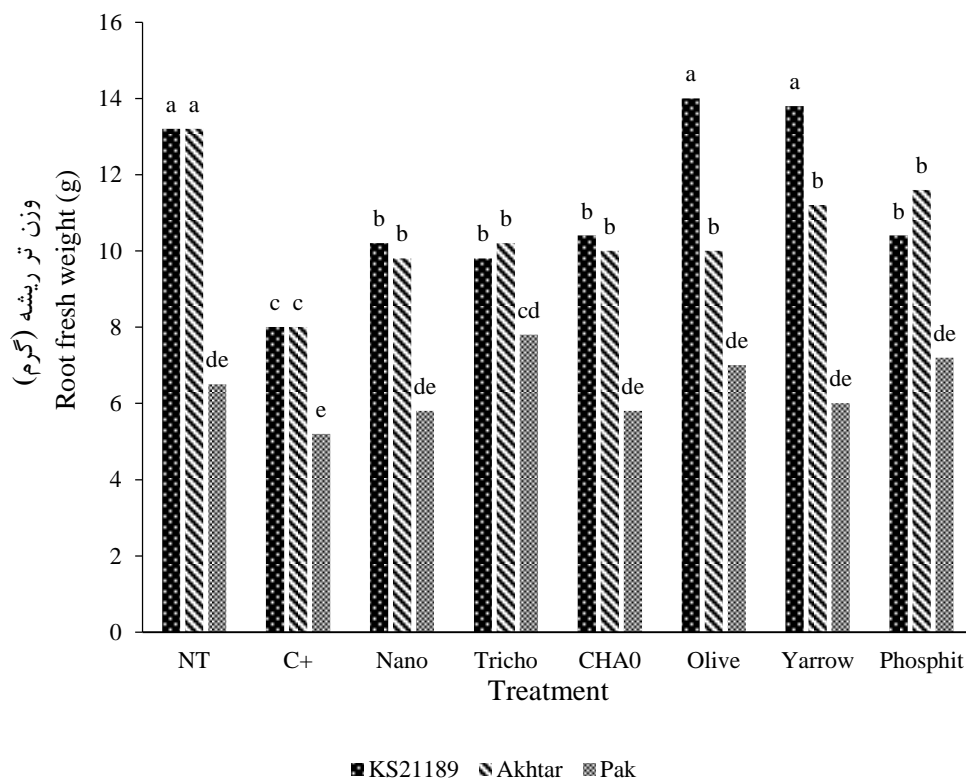
آلودگی ویروسی در تمام ژنوتیپهای مورد بررسی به جز پاک نسبت به گیاهان شاهد سالم به طور معنی داری باعث کاهش وزن تر ریشه شد. نتایج نشان داد وزن تر ریشه در برخی تیمارها نسبت به گیاه آلوده به BYMV به طور معنی داری افزایش یافت. وزن تر ریشه نسبت به شاهد آلوده در ژنوتیپ KS21189 مایه زنی شده با BYMV در بین تیمارهای اعمال شده



تیمارهای *T. harizianum* بود. در بررسی وزن برگ ژنوتیپ اختر مایه زنی شده با BYMV همگی تیمارهای اعمال شده به جز *T. harizianum* اختلاف معنی داری نسبت به گیاه آلوده داشتند و بیشترین تاثیر مربوط به باکتری سنتز کننده نانو ذرات نقره بود. در مورد تاثیر تیمارهای اعمال شده بر روی ژنوتیپ پاک مایه زنی شده با ویروس BYMV نتایج نشان داد که در بین تیمارهای اعمال شده به جز *T. harizianum* و *P. fluorescens* CHA0 باکتری سنتز کننده نانو ذرات نقره بقیه تیمارها اختلاف معنی داری با شاهد آلوده داشتند. در مورد ژنوتیپ پاک بیشترین تاثیر مربوط به عصاره الکلی گیاه بومادران بود (شکل ۷).

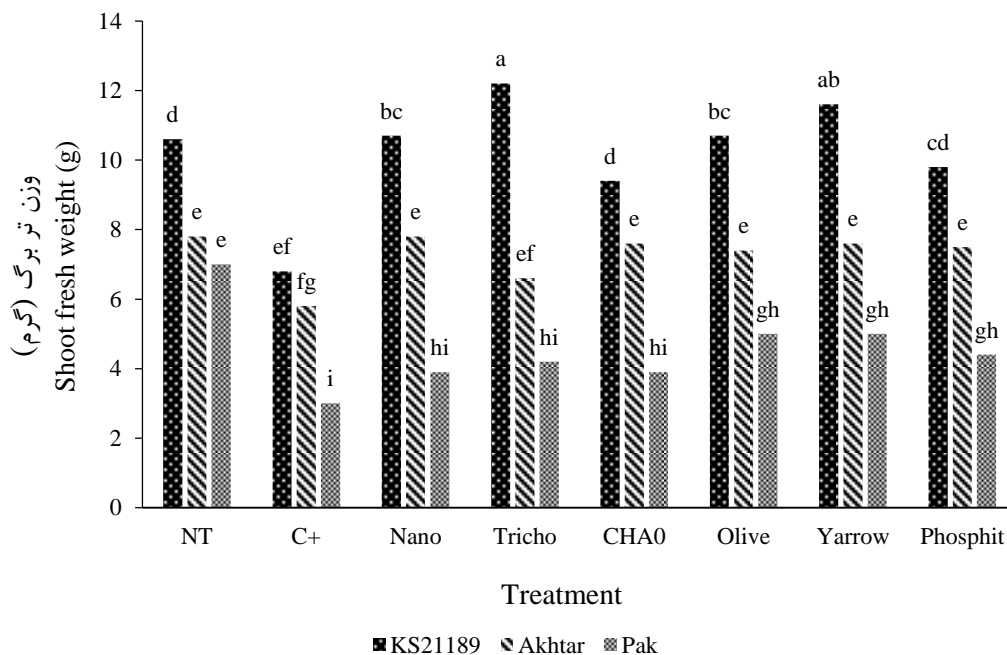
بود. در ژنوتیپ پاک تفاوت معنی داری بین وزن ریشه گیاه شاهد آلوده و سالم وجود نداشت و نتایج نشان داد که در بین همه تیمارهای اعمال شده به جز تیمار *T. harizianum* اختلاف معنی داری با شاهد آلوده مشاهده نشد اما تیمار مذکور بیشترین تاثیر را در افزایش وزن تر ریشه داشت (شکل ۶).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها در بررسی وزن تر برگ در تمام ژنوتیپ‌ها نسبت به گیاهان شاهد سالم کاهش معنی داری را نشان داد، بطوریکه وزن تر برگ به طور کلی در اکثر تیمارهای اعمال شده نسبت به گیاه آلوده به BYMV به طور معنی داری افزایش می‌یابد. بین تاثیر تیمارهای اعمال شده در ژنوتیپ KS21189 آلوده به BYMV اختلاف معنی دار مشاهده گردید و بیشترین وزن تر برگ مربوط به



شکل ۶- بررسی اثر شش تیمار بر وزن تر ریشه در سه ژنوتیپ لوبیای مایه زنی شده با BYMV (Nano: نانو ذرات نقره، Tricho: قارچ تریکودرما، CHA0: سویه باکتری سودوموناس، Olive: عصاره زیتون، Yarrow: عصاره بومادران، Phosphit: فسفیت پتاسیم، C<sup>+</sup>: گیاه آلوده و NT: گیاه سالم)

Figure 6 - Effect of six treatments on root fresh weight in three inoculated bean genotypes with BYMV (Nano: Nano silver particles, Tricho: Trichoderma, CHA0: *pseudomonas fluorescens* strain, Olive: Olive extract, Yarrow: Yarrow extract, Phosphit: Potassium phosphite, C<sup>+</sup>: Infected plant, NT: Un infected plant)

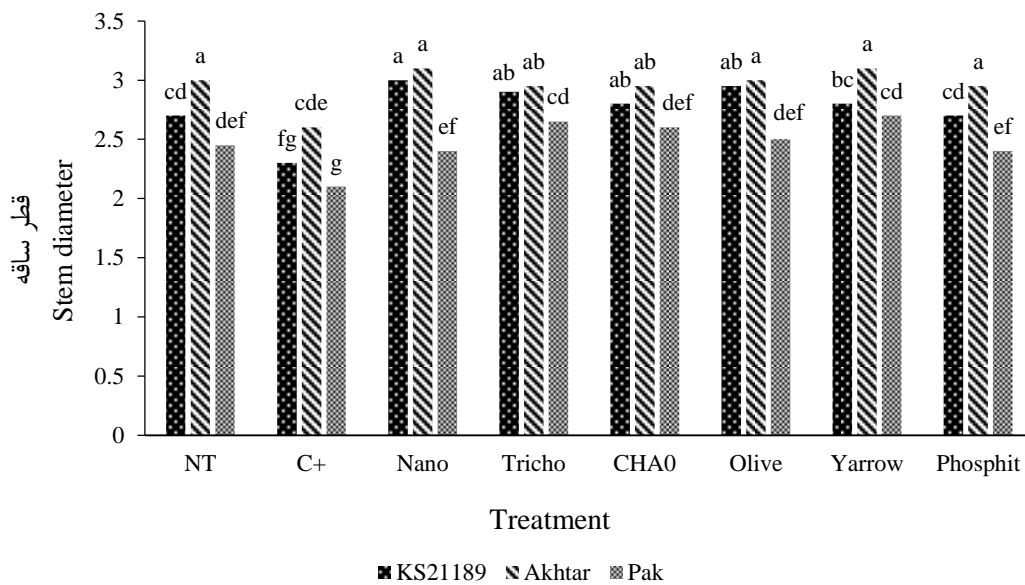


شکل ۷- بررسی اثر شش تیمار بر وزن تر اندام هوایی در سه ژنوتیپ لوبیای مایه زنی شده با BYMV (Nano: نانو ذرات نقره، Tricho: قارچ تریکودرما، CHA0: سویه باکتری سودوموناس، Olive: عصاره زیتون، Yarrow: عصاره بومادران، Phosphit: فسفیت پتاسیم، C<sup>+</sup>: گیاه آلوده و NT: گیاه سالم)

Figure 7- Effect of six treatments on shoot fresh weight in three inoculated bean genotypes with BYMV (Nano: Nano silver particles, Tricho: Trichoderma, CHA0: *pseudomonas fluorescens* strain, Olive: Olive extract, Yarrow: Yarrow extract, Phosphit: Potassium phosphite, C<sup>+</sup>: Infected plant, NT: Un infected plant)

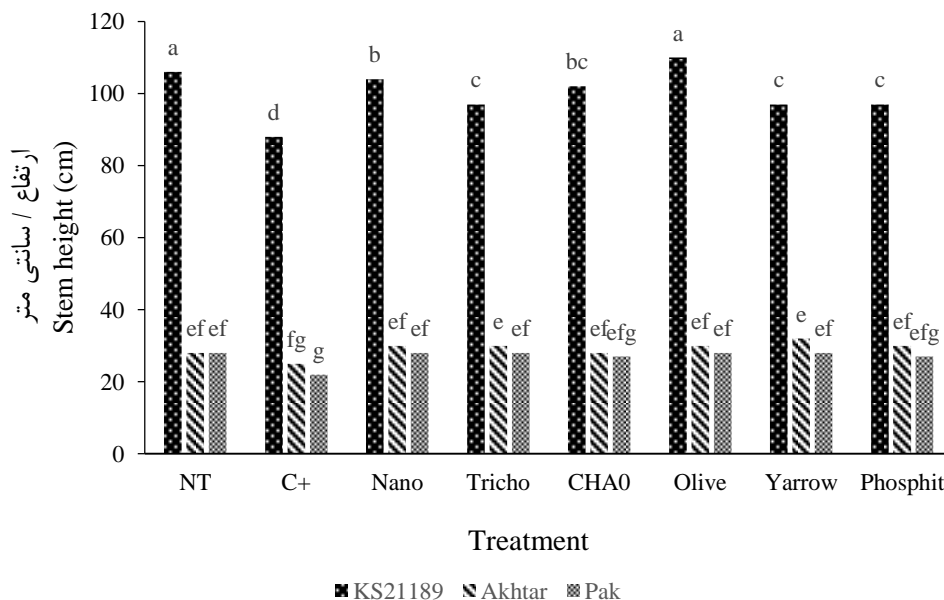
حالی که ارتفاع گیاه در برخی گیاهان آلوده به ویروس تیمار شده با عوامل مختلف نسبت به گیاه آلوده به ویروس به صورت معنی داری افزایش داشت. در ژنوتیپ KS21189 اختلاف معنی داری بین تیمارهای مختلف مشاهده شد و بیشترین ارتفاع گیاه مربوط به تیمار عصاره الکی گیاه زیتون بود که با گیاه شاهد سالم اختلاف معنی داری نداشت. در ژنوتیپ اختر مایه زنی شده با تیمارهای اعمال شده به جز تیمار *T. harizianum* و عصاره الکی بومادران در بقیه تیمارها اختلاف معنی داری نسبت به شاهد آلوده مشاهده نشد و بنابراین بیشترین تاثیر مربوط به این دو تیمار بود. در ژنوتیپ پاک آلوده با BYMV نیز در بین اکثر تیمارهای اعمال شده (به جز در مورد سم فسفیت پتاسیم و CHA0 *P. fluorescens* اختلاف معنی دار نسبت به شاهد آلوده مشاهده گردید و بیشترین تاثیر به گیاه تیمار شده با *T. harizianum* متعلق بود (شکل ۹).

نتایج مقایسه میانگین قطر ساقه نشان داد که، ژنوتیپهای مایه زنی شده با BYMV، نسبت به گیاهان شاهد سالم کاهش معنی داری در اندازهی قطر ساقه دارا بودند. قطر ساقه به طور کلی در تمام تیمارها نسبت به گیاه آلوده به BYMV به طور معنی داری افزایش یافت. در ژنوتیپ KS21189 در بین تیمارهای اعمال شده اختلاف معنی داری نسبت به شاهد آلوده مشاهده شد و بیشترین میزان قطر ساقه مربوط به تیمارهای باکتری سنتز کننده نانوذرات نقره بود. در ژنوتیپ اختر آلوده به ویروس، تیمارهای اعمال شده با شاهد آلوده اختلاف معنی دار داشتند و بیشترین تاثیر مربوط به عصاره الکی بومادران بود. در ژنوتیپ پاک نیز تیمارهای اعمال شده اختلاف معنی داری نسبت به شاهد آلوده داشته و بیشترین تاثیر مربوط به تیمارهای *T. harizianum* بود (شکل ۸). در تمام ژنوتیپهای آلوده نسبت به گیاهان شاهد سالم، ارتفاع گیاه به صورت معنی دار کاهش یافت. در



شکل ۸- بررسی اثر شش تیمار بر قطر ساقه در سه ژنوتیپ لوبیای مایه زنی شده با BYMV (Nano:نانو ذرات نقره، Tricho: قارچ تریکودرما، CHA0: سویه باکتری سودوموناس، Olive: عصاره زیتون، Yarrow: عصاره بومادران، Phosphit: فسفیت پتاسیم، C<sup>+</sup>: گیاه آلوده و NT: گیاه سالم)

Figure 8 - Effect of six treatments on stem diameter in three inoculated bean genotypes with BYMV (Nano: Nano silver particles, Tricho: Trichoderma, CHA0: *pseudomonas fluorescens* strain, Olive: Olive extract, Yarrow: Yarrow extract, Phosphit: Potassium phosphite, C<sup>+</sup>: Infected plant, NT: Un infected plant)



شکل ۹- بررسی اثر شش تیمار بر ارتفاع ساقه در سه ژنوتیپ لوبیای مایه زنی شده با BYMV (Nano:نانو ذرات نقره، Tricho: قارچ تریکودرما، CHA0: سویه باکتری سودوموناس، Olive: عصاره زیتون، Yarrow: عصاره بومادران، Phosphit: فسفیت پتاسیم، C<sup>+</sup>: گیاه آلوده و NT: گیاه سالم)

Figure 9 - Effect of six treatments on stem height in three inoculated bean genotypes with BYMV (Nano: Nano silver particles, Tricho: Trichoderma, CHA0: *pseudomonas fluorescens* strain, Olive: Olive extract, Yarrow: Yarrow extract, Phosphit: Potassium phosphite, C<sup>+</sup>: Infected plant, NT: Un infected plant)

## بحث

ویروس موزایک زرد لوبیا از لحاظ اقتصادی یکی از مهم ترین ویروس های خسارت زننده به لوبیا است که در نقاط مختلف دنیا باعث کاهش محصول می شوند (Nagaoka et al. 2008). در تحقیق حاضر اثر ضد ویروسی (منظور کاهش خسارت ناشی از ویروس می باشد) عصاره ی الکلی گیاه بومادران و زیتون، ایجاد مقاومت القایی به وسیله باکتری *P. fluorescence* و قارچ *CHA0* و قارچ *T. harizianum*، ترکیبات شیمیایی مانند فسفیت پتاسیم و همچنین تاثیر نانوذرات نقره تولید شده توسط باکتری *P. fluorescence* *CHA0* در جهت کنترل BYMV در سه ژنوتیپ لوبیا (KS، اختر و پاک) مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت.

در بررسی سه ژنوتیپ لوبیا مورد استفاده در این پژوهش نسبت به BYMV با آزمون داس الیزا، ژنوتیپ KS و پاک به ترتیب بیشترین و کمترین حساسیت را نسبت به BYMV نشان دادند. نتایج حاصل از ارزیابی عوامل کنترل کننده بیولوژیکی و شیمیایی بر روی تکثیر BYMV در سه ژنوتیپ لوبیا به وسیله آزمون داس الیزا نشان داد که غلظت ویروس به طور کلی در تمام تیمارها نسبت به گیاهان آلوده به طور معنی داری کاهش یافته است. در بین تیمارهای مختلف مورد استفاده در این پژوهش در اکثر موارد اختلاف معنی داری با شاهد سالم مشاهده نگردید. تاثیر تیمارهای فسفیت پتاسیم، عصاره الکلی بومادران، سوبه *CHA0* و قارچ تریکودرما در کاهش غلظت ویروس در سه ژنوتیپ مورد بررسی یکسان بود.

در این پژوهش برای اولین بار تاثیر عصاره های الکلی بومادران و زیتون و نانوذرات نقره علیه بیماری ویروسی گیاهی ناشی از BYMV مورد بررسی قرار گرفت. گزارش های محدودی که توسط محققین مختلف در مورد تاثیر عصاره های گیاهی بر روی ویروس های انسانی انجام گرفته است، به اثر مهارکنندگی تکثیر ویروس به وسیله ترکیبات موجود در این عصاره ها اشاره دارد. نتایج این پژوهش نشان داد که عصاره الکلی گیاه بومادران به نسبت زیادی غلظت ویروس را کاهش داد، همانطور که در گذشته

محققان نشان دادند که برگ های زیتون در شرایط آزمایشگاهی با دارا بودن قابلیت مهارکنندگی قوی، در برابر تعداد زیادی از ویروس های انسانی مانند پارآنفلوانزا، هرپس و HIV موثر است. همچنین مشخص شده است که عصاره برگ زیتون به وسیله مهار مونتاز ویروس در غشای سلول، مداخله در اسیدهای آمینه مهم و متوقف کردن عمل جداسازی پوسته از قالب نوکلئیک اسید ویروس از آلودگی ویروسی جلوگیری می کند. اسانس گیاه ریحان دارای عملکرد ضدقارچی، ضد باکتریایی و آنتی اکسیدانی است که با ایجاد تغییرات فیزیولوژیک خاص در گیاه، آن را در برابر تنش های زنده و غیر زنده محافظت میکند (Reuveni et al. 2002). عصاره های استخراج شده از گیاهان می توانند باعث فعال شدن سیستم دفاعی گیاه برای جلوگیری از استقرار ویروس در گیاه شوند. همچنین ترکیبات ضد ویروسی موجود در عصاره ها (فلاونوئیدها، تانن ها، روغن های فرار، تریپن ها) احتمالاً به صورت مستقیم بر روی ذرات ویروسی اثر می گذارند (Di Piero et al., 2010). عصاره گیاه سرخاب کولی به طور معنی داری از تولید اسپور قارچ *Penicillium digitatum* ممانعت کرد (حبیب زاده و بیکی، ۱۳۹۷). نتیجه بررسی اثر نانوذرات نقره بر میزان غلظت ویروس نشان داد که گیاهان تیمار شده با نانوذرات نقره سبب کاهش غلظت ویروس گردیدند که با نتایج پژوهشی در سال ۲۰۱۱ مطابقت دارد که نشان دادند نانوذرات به تنهایی از طریق تعامل با سطح پروتئین های ویروس و تعامل با ژنوم ویروس فعالیت ضدویروسی خود را اعمال می کنند، بدین صورت که در سلول های آلوده نانوذرات نقره فاکتورهای سلولی مورد نیاز برای تولید و تکثیر ویروس های جدید را مختل و از تکثیر ویروس در سلول آلوده جلوگیری می کنند (Galdiero et al. 2011). اخیراً مطالعات انجام شده بر روی ویروس های انسانی نشان داده اند که نانوذرات نقره توانایی اتصال به ذرات HIV را دارا می باشند و مانع از توانایی اتصال ویروس به سلول میزبان می شوند (Galdiero et al. 2011). در مورد تاثیر بیوکنترلی قارچ *T. harizianum* در

دآمیناز<sup>۱</sup>، حل کنندگی فسفات، تولید سیدروفور، اسید سالیسیلیک، کیتیناز و جلوگیری از تولید سیانیدهیدروژن می‌باشد. از میان مکانیسم های فوق به نظر می‌رسد تولید سیدروفور نسبت به مکانیسم های دیگر نقش مهم تری در کاهش غلظت ویروس داشته است (Schipper et al. 1990, Ajit et al. 2006). نتایج مورفی در سال ۲۰۰۰ نشان داد که گیاهان گوجه فرنگی تیمار شده با باکتری *B. amyloliquefaciens*, *B. pumilus*, *B. subtilis* معنی داری در شدت بیماری ویروس پیسه ای گوجه فرنگی (Tomato mottle virus, ToMoV) نشان دادند (Murphy et al. 2000). ریزوباکتری ها سبب کاهش بیماری های ویروسی از جمله ویروس موزاییک خیار (Cucumber mosaic virus) و ویروس برگ دسته ای موز (Banana bunchy top virus)، ویروس پژمردگی لکه ای گوجه فرنگی (Tomato spotted wilt virus) شدند (Kandan et al. 2005; Jetiyanona and Kloepper 2002, Harish et al. 2009). در تمام فاکتورهای مورد ارزیابی، بیشترین تاثیر مثبت به گیاهان تیمار شده با فسفیت متعلق بود. در مورد تاثیر فسفیت پتاسیم در کنترل بیماری های گیاهی مطالعات زیادی صورت گرفته است و به نقش مثبت آن در کنترل بیماری ها اشاره دارند. ترکیبات شیمیایی القا کننده مقاومت در گیاهان باعث تجمع فیتوالکسین ها، چوبی شدن بافت ها در اثر القا ترکیبات فنل و فعال سازی آنزیم های پروکسیداز، پلی فنل اکسیداز و کیتیناز می شوند (Segarra et al. 2006). فسفیت پتاسیم می تواند به طور مستقیم و یا با القا مقاومت سیستمیک (SAR) مقاومت گیاه را در برابر بیماری های گیاهی افزایش دهد (Gozzo and Faoro, 2013). فسفیت برای کنترل فیتوفترا بر روی محصولات زراعی و باغی مختلف استفاده شده است که از جمله آن می توان به کنترل *P. palmivora* پایا (Vawdrey and Westerhuis, 2007) *P. infestans* سیب زمینی (Lim et al., 2013) و *P. palmivora* کاکائو (McMahon et al., 2010) اشاره کرد. در سال ۱۹۹۶

کنترل بیماری های ویروسی پژوهش های اندکی صورت گرفته است. رقابت، آنتی بیوز، پارازیتسم و مقاومت القایی سیستمیک از نقش های احتمالی قارچ تریکودرما در کنترل بیماری های گیاهی می باشد که از طریق مکانیسم های یاد شده باعث کاهش خسارت بیمارگر و افزایش رشد گیاه می گردد (Tilak et al. 2005). عصاره قارچ تریکودرما سبب کنترل عوامل بیمارگرهای مختلفی از جمله *Salmonella typhi*، *Macrophomina phaseolina*، *Xanthomonas citri* و *Rhizoctonia solani* گردید، نتایج نشان داد این عصاره حاوی یک پروتئین ضد میکروبی است که در دمای ۱۰۰ درجه و طیف گسترده ای از pH های اسیدی و کلیایی پایدار می ماند (کاظم زاده و همکاران، ۱۳۹۴). آنزیم پراکسیداز با تولید رادیکالهای آزاد اکسیژن و پراکسید هیدروژن سد دفاعی گیاه را افزایش می دهد (Sauza et al., 2017). پژوهش ها نشان داد مقاومت لوبیا چشم بلبلی به *Uromyces Vignae* (Mould et al., 2003) *Rhizoctonia solani* به مقاومت پنبه به *Rhizoctonia solani* (Howell et al., 2000) و مقاومت ذرت علیه *Aspergillus Flavus* (Magbana et al., 2007) ارتباط مستقیمی با افزایش آنزیم پراکسیداز دارد. نتایج پژوهش هاوول و همکاران در سال ۲۰۰۰ عنوان کرد که بذور پنبه تیمار شده با *T. virens* با القای آنزیم پراکسیداز، مانع پیشروی قارچ *Rhizoctonia solani* می گردد (Howell et al., 2000). قارچ تریکودرما با افزایش سنتز و ترشح ترکیبات فنلی و آنزیم پراکسیداز سبب القا مقاومت سیستمیک شده و سیستم دفاعی گیاه را در برابر بیمارگرهای گیاهی تحریک میکند (Gravel et al. 2007, Amini et al. 2014, Anjum et al. 2010, Mastouri et al. 2012). تاثیر بیوکنترلی سویه CHA0 باکتری *Pseudomonas* نیز در جهت کنترل بیماری های ویروسی توسط محققین به اثبات رسیده است. که نتایج این پژوهش نیز اثر این باکتری را در کاهش غلظت ویروس و کنترل بیماری نشان داد. از مکانیسم های بیوکنترلی سویه CHA0 توانا بودن در تولید صفات محرک رشد گیاه مانند تولید اکسین، سیتوکنین، جیبرلین، اتیلن، تولید آنزیم ACC

1 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase

نتایج پژوهشی نشان داد که باکتری *P. fluorescens* با *mosaic cumumovirus* (CMV) در گیاه گوجه فرنگی  
القای مقاومت، سبب کنترل بیماری *cucumber* و نارگیل شد (Raupach et al., 1996).

## REFERENCES

- حبیب زاده س، بیکی ف. (۱۳۹۷) پژوهش های کاربردی در گیاهپزشکی (دانش کشاورزی)، دوره ۷ شماره ۱ صفحه ۱۲۳-۱۳۴.
- کاظم زاده س، فرخی ن، امین زاده س، علوی س، سرپله ا، ممر آبادی م (۱۳۹۴) خواص ضد میکروبی عصاره خام *Trichoderma harzianum* و نقش بیوکنترلی آن. مجله پژوهش های سلولی و مولکولی (مجله زیست شناسی ایران). جلد ۲۸ شماره ۱ صفحه ۱۰۷-۱۴.
- Ajit NS, Verma R, Shanmugam V** (2006) Extracellular chitinases of *fluorescent pseudomonads* antifungal to *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* causing carnation wilt. *Current Microbiology* 52: 310-316.
- Amini Y, Mohammadi A, Zafari D** (2014) *Trichoderma* species associated with medicinal plants. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research* 2 (9): 2566-2568.
- Anjum T, Fatima S, Amjad S** (2012) Physiological changes in wheat during development of loose smut. *Tropical Plant Pathology* 37 (2): 102-107.
- Clark MF, Adams A** (1977) Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *Journal of General Virology* 34: 475-483.
- Di Piero RM, Novaes QSd, Pascholati SF** (2010) Effect of *Agaricus brasiliensis* and *Lentinula edodes* mushrooms on the infection of passionflower with Cowpea aphid-borne mosaic virus. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 53: 269-278.
- Dimitrov DS** (2004) Virus entry: molecular mechanisms and biomedical applications. *Nature Reviews Microbiology* 2: 109-122.
- Galdiero S, Falanga A, Vitiello M, Cantisani M, Marra V, Galdiero M** (2011) Silver nanoparticles as potential antiviral agents. *Molecules* 16: 8894-8918.
- Galvez G, Morales F** (1989) Aphid-transmitted viruses. *Centro Internacional de Agricultura Tropical*. Cali, Colombia 333-363.
- Gozzo F, Faoro F** (2013) Systemic acquired resistance (50 years after discovery): moving from the lab to the field. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61, 12473-12491.
- Guest D, Grant B** (1991) The complex action of phosphonates as antifungal agents. *Biological Reviews* 66: 159-187.
- Gravel V, Antoun H, Tweddell RJ** (2007) Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biology and Biochemistry* 39 (8): 1968-1977.
- Hagedorn DJ, Inglis D** (1986) Handbook of bean diseases. Publication-University of Wisconsin, Cooperative Extension Service.
- Hammond J, Hammond R** (2003) The complete nucleotide sequence of isolate BYMV-GDD of Bean yellow mosaic virus, and comparison to other potyviruses. *Archives of virology* 148: 2461-2470.
- Hampton R, Jensen A, Hagel G** (2005) Attributes of Bean yellow mosaic potyvirus transmission from clover to snap beans by four species of aphids (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology* 98: 1816-1823.
- Harish S, Kavino M, Kumar N, Balasubramanian P, Samiyappan R** (2009) Induction of defense-related proteins by mixtures of plant growth promoting endophytic bacteria against Banana bunchy top virus. *Biological Control* 51(1): 16-25.
- Howell CR, Hanson LE, Stipanovic RD, Puckhaber LS** (2000) Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. *Phytopathology* 90 (3): 248-252.
- Jetiyanon K, Kloepper JW** (2002) Mixtures of plant growth-promoting rhizobacteria for induction of systemic resistance against multiple plant diseases. *Biological Control* 24(3): 285-291.
- Kalishwaralal K, Deepak V, Ramkumarpandian S, Nellaiah H, Sangiliyandi G** (2008) Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles by the culture supernatant of *Bacillus licheniformis*. *Materials Letters* 62: 4411-4413.
- Kandan A, Ramiah M, Vasanthi VJ, Radjacomare R, Nandakumar R, Ramanathan A, Samiyappan R** (2005) Use of *Pseudomonas fluorescens*-based formulations for management of Tomato spotted wilt virus (TSWV) and enhanced yield in tomato. *Biocontrol Science and Technology* 15(6): 553-569.



- Magbanua ZV, De Moraes CM, Brooks TD, Williams WP, Luthe DS** (2007) Is catalase activity one of the factors associated with maize resistance to *Aspergillus flavus*? *Molecular Plant-Microbe Interactions* 20 (6): 697-706.
- Mastouri F, Bjorkman T, Harman GE** (2010) Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. *Phytopathology* 100 (11): 1213-1221.
- McMahon PJ, Purwantara A, Wahab A, Imron M, Lambert S, Keane PJ** (2010) Phosphonate applied by trunkinjection controls stem canker and decreases Phytophthora rot (black pod) incidence in cocoa in Sulawesi. *Australasian Plant Pathology*, 39,170–175.
- Melby T, Westby M** (2009) Inhibitors of viral entry. *Antiviral Strategies*. Springer 177-202.
- Mould MJR, Xu T, Barbara M, Iscove NN, Heath MC** (2003) cDNAs generated from individual epidermal cells reveal that differential gene expression predicting subsequent resistance or susceptibility to rust fungal infection occurs prior to the fungus entering the cell lumen. *Molecular Plant Microbe Interactions* 16 (9): 835-845.
- Murphy JF, Zehnder GW, Schuster DJ, Sikora EJ, Polston JE, Kloepper JW** (2000) Plant growth-promoting rhizobacterial mediated protection in tomato against Tomato mottle virus. *Plant Disease* 84(7): 779-784.
- Lim S, Borza T, Peters RD, Coffin RH, Al-Mughrabi KI, Pinto DM** (2013) Proteomics analysis suggests broad functional changes in potato leaves triggered by phosphites and a complex indirect mode of action against *Phytophthora infestans*. *Journal of Proteomics* 93,207–223.
- Raupach GS, Liu L, Murphy JF, Tuzun S, Kloepper JW** (1996) Induced Systemic Resistance in Cucumber and Tomato Against Cucumber Mosaic Cucumovirus Using Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR). *Plant Disease*, 891-894.
- Rebetzke GJ, Richards RA, Condon AG, Farquhar, GD** (2006) Inheritance of carbon isotope discrimination in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica* 150: 97-106.
- Reuveni R, Raviv M, Krasnovsky A, Freiman L, Medina S, Bar A, Orion D** (2002) Compost induces protection against *Fusarium oxysporum* in sweet basil. *Crop Protection* 21 (7): 583-587.
- Rosegrant MW, Paisner MS, Meijer S, Witcover J** (2001) Global food outlook: Trends, alternatives, and choices. *International Food Policy Research Institute*, 354p.
- Schippers B, Bakker A, Bakker P, Van Peer R** (1991) Beneficial and deleterious effects of HCN-producing pseudomonads on rhizosphere interactions, *The rhizosphere and plant growth*. Springer 211-219.
- Segarra G, Jáuregui O, Casanova E, Trillas I** (2006) Simultaneous quantitative LC–ESI-MS/MS analyses of salicylic acid and jasmonic acid in crude extracts of *Cucumis sativus* under biotic stress. *Phytochemistry* 67: 395-401.
- Soliva RC, Elez P, Sebastián M, Martín O** (2000) Evaluation of browning effect on avocado purée preserved by combined methods. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 1: 261-268.
- Speshock JL, Murdock RC, Braydich-Stolle LK, Schrand AM, Hussain SM** (2010) Interaction of silver nanoparticles with Tacaribe virus. *Journal of Nanobiotechnology* 8: 19.
- Tepe B, Donmez E, Unlu M, Candan F, Daferera D, Vardar-Unlu G, Polissiou M, Sokmen A** (2004) Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis*. *Food Chemistry* 84: 519-525.
- Tilak K, Ranganayaki N, Pal KDeR, Saxena A, Nautiyal CS, Mittal S, Tripathi A, Johri B** (2005) Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Current Science* 89: 136-150.
- Wang S, Wu H, Qiao J, Ma L, Liu J, Xia Y, Gao Y** (2009) Molecular Mechanism of Plant Growth Promotion and Induced Systemic Resistance to Tobacco Mosaic Virus by *Bacillus* spp. *Journal of Microbiology and Biotechnology*.
- Vawdrey LL, Westerhuis D** (2007). Field and glass house evaluations of metalaxyl, potassium phosphonate, acibenzolar and tea tree oil in managing *Phytophthora* root rot of papaya in far northern Queensland, Australia. *Australasian Plant Pathology*, 36,270–276.