Applied Entomology and Phytopathology آفات و بیماری‌های گیاهی

Vol. 93, No. 1, Sep., 2025 جلد۹۳، شماره ۱، شهریور ۱٤۰٤

Scientific article

Optimizations of industrial culture medium for mass production of *Trichoderma harzianum* K18 and its formulation for controlling of cucumber powdery mildew in greenhouse conditions

LACHIN MOKHTARNEJAD[1]✉, SAMIRA SHAMELI[2]

1. Assistant Professor, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran; 2.Researcher, Plant Protection Research Department, Golestan Agricultural Research, Education and Extension Center, AREEO, Gorgan, Iran.

(Received: Feb. 2025; Accepted: Aug. 2025)

Abstract

Using agro-wastes is a good alternative for developing low-cost carriers for formulation of *Trichoderma*-based bio-products. Different carbon and nitrogen sources (rice bran, wheat bran, barley bran, Pith, Sugarcane pith, yeast extract, soybean extract, and urea) used for biomass production of *T. harzianum* K18 isolate. Out of 15 different substrates tested, the substrate containing wheat bran and yeast extract was the best substrate for *T. harzianum* k18 produced a high density of propagules (8.9×10^7 cfu/g) after 21 days. For the *T. harzianum* K18 formulation, some adjuvants (including glycerol and carboxymethyl cellulose) added to carriers (kaolin and perlite). At the end of six months of storage period, the kaolin-based formulation with 6.51 and 6.07 log/cfu propagules per gram showed the highest viability of *T. harzianum* k18 in formulations at 4˚ C and 24˚ C, respectively. The best formulations based on *T. harzianum* K18 viability at formulations selected for greenhouse studies. 24 hours later than plants spraying with the formulations, the plants incubated with the pathogen spores and after five, 10 and 20 days of incubation, the severity of the disease evaluated. The disease severity at treatment with *T. harzianum* k18 formulation was 45.42 %, less than the control. Finally, it seems there is a possibility of biological control of cucumber powdery mildew using the microbial formulations of *T. harzianum* K18.

Keywords: Biological control, fermentation, optimization, powdery mildew

DOI: http://doi.org/10.22092/jaep.2025.367975.1539
✉ **L.mokhtarnejad@gmail.com**
©2025, The Author(s). Published by Iranian Research Institute of Plant Protection (IRIPP). This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0)

آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد۹۳، شماره ۱، شهریور ۱٤۰٤

Applied Entomology and Phytopathology
Vol. 93, No. 1, Sep., 2025

مقاله پژوهشی

بهینه سازی بستر کشت صنعتی برای تولید انبوه *Trichoderma harzianum* K18 و فرمولاسیون آن برای مهار سفیدک سطحی خیار در شرایط گلخانه

لاچین مختارنژاد[۱]✉، سمیرا شاملی[۲]

۱- استادیار، مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران؛

۲- محقق بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش و ترویج کشاورزی گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران

(تاریخ دریافت: اسفند ۱٤۰۳؛ تاریخ پذیرش: مرداد ۱٤۰٤)

چکیده

استفاده از پسماندهای کشاورزی گزینه مناسبی برای تولید بستر زیست توده و حامل‌های ارزان قیمت فرمولاسیون‌های دربردارنده *Trichoderma* به‌عنوان یک عامل کنترل زیستی می‌باشد. به‌منظور تولید بیومس جدایه قارچی *T. harzianum* K18 از منابع مختلف کربن و نیتروژن شامل سبوس گندم، سبوس جو، سبوس برنج، پیت خام نیشکر، پیت خام نیشکر غنی شده با ملاس نیشکر، عصاره مخمر، عصاره سویا و اوره، استفاده شد. پس از ۲۱ روز نگهداری در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس از بین ۱۵ بستر حاصل از ترکیب منابع کربن و نیتروژن مختلف، بیشترین جمعیت سلول زنده با $۸/۹\times۱۰^{۷}$ کنیدیوم در هرگرم، در بستر حاوی سبوس گندم و عصاره مخمر مشاهده شد. برای تهیه فرمولاسیون قارچ *T. harzianum* K18 مواد کمکی (شامل گلیسرول و کربوکسی متیل سلولز) به دو حامل کائولین و پرلیت اضافه شدند. در پایان شش ماه نگهداری در دمای ٤ و ٢٤ درجه سلسیوس فرمولاسیون‌های بر پایه کائولین به ترتیب با٦/٥١ و ٦/٠٧ لگاریتم سلول زنده قارچ در هر گرم فرمولاسیون بالاترین میزان ماندگاری را داشتند. پایدارترین فرمولاسیون با زادمایه *T. harzianum* K18 به‌منظور ارزیابی توانایی کنترل سفیدک پودری خیار در شرایط گلخانه بررسی شد. ٢٤ ساعت بعد از محلول‌پاشی با فرمولاسیون، گیاهان با بیمارگر مایه‌زنی شدند و شدت بیماری در روزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ روز پس از مایه‌زنی، ارزیابی شد. نتایج نشان داد که بعد از ۲۰ روز، فرمولاسیون جدایه *T. harzianum* K18 موجب کاهش شدت بیماری به میزان ٤٥/٤٢ درصد در مقایسه با شاهد شد. در پایان به نظر می‌رسد که فرمولاسیون جدایه قارچی *T. harzianum* K18، می‌تواند به عنوان روشی مؤثر برای مهار زیستی سفیدک سطحی خیار استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: بهینه‌سازی، سفیدک پودری، فرمانتاسیون، مهارزیستی

DOI: http://doi.org/10.22092/jaep.2025.367975.1539
✉ L.mokhtarnejad@gmail.com
©2025, The Author(s). Published by Iranian Research Institute of Plant Protection (IRIPP). This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0)

مقدمه

تریکودرما قارچی با قابلیت مهارزیستی است که به طور گسترده‌ای در سراسر جهان پراکنده شده و دارای ارزش کاربردی و پتانسیل بسیار بالایی در زمینه مهار زیستی بیماری‌های گیاهی می‌باشد. همچنین گونه های تریکودرما با حدود ۲۵۰ محصول ثبت شده به‌طور گسترده‌ای به‌صورت محلول‌پاشی و یا استفاده در خاک برای کنترل بیماری‌های گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Tyśkiewicz *et al.,* 2022). پژوهش بر روی کاربرد تریکودرما برای کنترل بیماری‌های گیاهی از نقاط مختلف دنیا گزارش شده است. دو گونه *T. viride* و *T. harzianum* با درجات متفاوتی قادر به کنترل ۲۹ گونه قارچ بیمارگر گیاهی (متعلق به ۱۸ گونه) بوده است (Dugassa *et al.,* 2021; Intana *et al.,* 2021; Zhang *et al.,* 2021; Zhang Y. *et al.,* 2022). در مطالعه‌ای که بر روی تأثیر اسید سالسیلیک و قارچ *T. harzianum* در کاهش آلودگی خیار به *Podosphaera xanthii* صورت گرفته، مشخص شده است که محلول‌پاشی گیاهان خیار با دو میلی لیتر اسید سالسیلیک و اضافه کردن بیومس *T. harzianum* به سیستم ریشه گیاه قبل از آلودگی به عامل سفیدک به ترتیب باعث کاهش ۹۰ درصد و ۵۳ درصد آلودگی گیاه می‌شود، در صورتی که کاربرد اسید سالسلیک بعد از آلودگی گیاه با قارچ عامل سفیدک باعث کاهش بیماری به میزان ٤۰ درصد می‌شود و استفاده از قارچ *T. harzianum*به صورت افزودن به خاک و محلول پاشی باعث کاهش ۵۷ درصد بیماری شده است (Abood Al-Janabi, 2012). در بازار فعلی گونه‌های تریکودرما، *T. harzianum* و بعد از آن *T. viride* و *T. koningii* از بیشترین استقبال برای کنترل بیماری‌های گیاهی برخوردار هستند. عمده محصولات بر پایه تریکودرما که در دنیا برای کنترل بیماری‌های گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل Trichodex (Makhteshim Chemical Works Ltd., Israel)، که همان فرم تجاری *T. harzianum* T-39، RootShield (Bioworks, USA) فرم تجاری *T. harzianum* T-22، Binab TF (Binab Bio Innovation AB, Sweden) که ترکیب تجاری *T. harzianum* و *T. polyspora*، می‌باشد (Yao *et al.,* 2023). مطالعات مشابهی در ایران و دنیا برای تهیه فرمولاسیون از این عوامل بیوکنترل و کاربرد آن برای کنترل سفیدک سطحی خیار انجام شده است. به‌طور مثال، Blight stop یک محصول بیولوژیک حاوی ترکیبی از *T. harzianum* و *B. subtilis* می‌باشد که برای کنترل بیماری‌های ناشی از قارچ‌های انگل اجباری مانند سفیدک سطحی و زنگ‌ها به ثبت رسیده است (Hafez *et al.*, 2018)، به‌خصوص درصورتی‌که قبل از آلودگی گیاه به بیماری استفاده شود (Singh *et al.,* 2018).

در حالت کلی فرمولاسیون‌ها به دو دستهٔ محصولات خشک (گردها، گرانول‌ها و بریکت‌ها) و سوسپانسیون‌ها (روغنی یا آبی و امولسیون‌ها) تقسیم‌بندی می‌شوندکه بر اساس موارد مصرف، انتخاب می‌شوند. فرمولاسیون نوع پودر وتابل یا رطوبت‌پذیر، با توجه به قابلیت‌هایی مانند بالا بودن زمان نگهداری، اختلاط‌پذیری خوب با آب و سهولت کاربرد با استفاده از تجهیزات سمپاشی معمولی از محبوبیت بالاتری برخوردار هستند (Mishra and Arora, 2016; Tewari *et al.,* 2020). به‌طور کلی کانی‌های رسی (کائولن، بنتونیت و غیره) به عنوان حامل به فرمولاسیون‌ها اضافه می‌شوند. آنها می‌تواند به طور مؤثر به میکروارگانیسم‌ها بچسبد و کارایی فرمولاسیون‌ها را در طول فرآیند آماده‌سازی بهبود بخشد و موجب افزایش پایداری در دوره نگهداری و در زمان استفاده شود (Zohar- Perez *et al.,* 2003). برای افزایش زنده‌مانی *T. harzianum* در فرمولاسیون مواد کمکی مختلفی مانند گلیسرول، کربوکسی‌متیل‌سلولز و... به فرمولاسیون‌ها اضافه می‌شود. از کربوکسی متیل سلولز به طور گسترده در فرمولاسیون قارچ تریکودرما استفاده شده است. اضافه کردن سه تا شش درصد گلیسرول به فرمولاسیون *T. harzianum* موجب افزایش طول مدت نگهداری فرمولاسیون با جمعیت ۲ ×۱۰^{۶} CFU از چهار ماه به هفت ماه شده است (Sriram *et al.,* 2011).

محیط کشت مورد استفاده برای تولید بیومس باکتری‌ها و مخمرها معمولاً مایع می‌باشد و برای قارچ‌ها معمولاً از بستر

جامد استفاده می‌کنند. سوبستراهای جامد شامل کاه، پوسته گندم، خاک اره، تفاله نیشکر نم‌دار و مرطوب، دانه‌های سورگوم، پوست شلتوک و مغز الیاف نارگیل پوسیده، کمپوست مزرعه و مواد دیگری که غنی از سلولز می‌باشند. از سبوس برنج و برگ خشک شده درخت موز برای تولید انبوه *T. harzianum* استفاده شده و نتایج رضایت خشی حاصل شده است (Thangavelu *et al.,* 2001). در مطالعه‌ای که برای تولید بیومس قارچ *T. harzianum* انجام شد از بین نُه بستر بررسی شده، بستر دانه ذرت آسیاب شده غنی شده با دکستروز و پروتئین هیدرولیز شده به عنوان کارآمدترین محیط کشت برای تولید بیومس این قارچ گزارش شده است (Bettiol and Morandi, 2005).

در این پژوهش مراحل بهینه‌سازی بستر کشت برای تولید حداکثر زادمایه جدایه قارچی *T. harzianum* k18 و تهیه فرمولاسیون مناسب با پایداری و ماندگاری بالا بررسی و در نهایت بهترین فرمولاسیون تهیه شده با بیشترین زادمایه به‌منظور کنترل سفیدک سطحی خیار در شرایط گلخانه ارزیابی شد.

روش بررسی

آماده‌سازی جدایه قارچ

جدایه قارچی *T. harzianum* k18 جداسازی شده از فلور گیاه خیار که با توجه به مطالعات سال ۹۷ (اطلاعات منتشر نشده) در کنترل سفیدک پودری گل محمدی و خیار مؤثر واقع شده بود، از کلکسیون میکروارگانیسم‌های مفید پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی دریافت شد.

بهینه‌سازی محیط کشت برای تولید بیومس قارچ

جهت تهیه زادمایه قارچ تریکودرما، یک پلاگ از کشت جوان قارچ در محیط PDA کشت شد و دو هفته در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شد، سپس با استفاده ازآب مقطر سترون حاوی توئین ۸۰، اسپورها از محیط شسته شدند. جهت حذف میسلیوم‌ها، سوسپانسیون اسپور از پارچه ململ چهار لایه عبور داده شد. سوسپانسیونی با جمعیت ۱×۱۰^{۵} اسپور در میلی‌لیتر آب سترون حاوی ۰/۰۵ درصد توین ۸۰ با استفاده از لام هماسیتومتر تهیه شد.

به‌منظور بررسی تولید توده قارچ از بسترهای جامد مختلفی استفاده شد. این بسترها شامل سبوس گندم، سبوس جو، سبوس برنج، پیت خام نیشکر و پیت خام نیشکر غنی شده با ملاس نیشکر بود. از عصاره مخمر، عصاره سویا و اوره به‌عنوان منبع ازت نیز استفاده شد. مقدار سه گرم کربنات کلسیم به‌منظور جلوگیری از چسبندگی اجزای بستر به یکدیگر و ۱۲گرم سولفات منیزیوم به‌منظور حفظ اسیدیته به هر یک کیلوگرم بستر اضافه شد. برای تهیه‌ی هر یک از تیمارها، بستر مورد استفاده پس از شست‌وشو و خیساندن به منظور جذب رطوبت لازم به میزان یک کیلوگرم درون کیسه‌های پلاستیکی قابل اتوکلاوشدن ریخته شد و پس از سترون شدن، با ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور *T. harzianum* با غلظت $۱۰^{۷}$ اسپور در میلی‌لیتر مایه‌زنی شد. سپس، این کیسه‌ها برای رشد *T. harzianum* در دمای اتاق نگهداری و جهت گسترش یکنواخت قارچ روی بسترها، هر ٤٨ ساعت یک بار کیسه‌ها تکان داده شد. پس از گذشت ۲۱ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و تاریکی، ارزیابی تیمارهای مختلف با تعیین میانگین تعداد اسپور در هر گرم از بستر انجام گرفت. سپس، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و گروه‌بندی میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن با برنامه‌ی نرم افزاری SAS 9.4 انجام شد. این بررسی، در شرایط آزمایشگاه به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۱۵ تیمار و سه تکرار انجام گرفت (بر اساس روش Mulatu و همکاران، ۲۰۲۱).

فرمولاسیون قارچ جدایه k18 *T. harzianum*

پودر کائولین و پرلیت به عنوان ماده پرکننده در تهیه فرمولاسیون‌ها استفاده شد. ۵۰ گرم از بستر کلونیزه شده با قارچ با ۱۰۰ گرم پودر پرکننده سترون مخلوط شد. کربوکسی‌متیل-سلولز (CMC) به میزان ۱۰ گرم در کیلوگرم و توئین ۲۰ به میزان یک درصد و گلیسرول به میزان سه درصد به هر فرمولاسیون‌ها اضافه شد و به خوبی مخلوط شدند (بر اساس روش Mulatu

و همکاران ۲۰۲۱ با کمی تغییرات). فرمولاسیون‌های تهیه شده در دمای اتاق (زیر هود) خشک شده و رطوبت نهایی اندازه‌گیری شد. ماندگاری فرمولاسیون‌های نگهداری شده در شرایط تاریکی در دماهای ٤ درجه سلسیوس (یخچال) و ٢٤ درجه سلسیوس (انکوباتور) هر ۳۰ روز یک بار در طی دوره زمانی ۱۸۰ روز با استفاده از روش سریال رقت (Serial dilution) محاسبه شد.

بررسی تأثیر دو فرمولاسیون برتر میکروبی در گلخانه

ارزیابی کارایی فرمولاسیون‌ها در شرایط گلخانه و در استان گلستان انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی شامل فاکتور A (در پنج سطح: فرمولاسیون حاوی قارچ، دو فرمولاسیون پایه بدون عامل کنترل بیولوژیک، تیمار قارچکش دومارک و شاهد) و فاکتور B (زمان ارزیابی در سه سطح: روز ۵، روز ۱۰، روز ۲۰) و در سه تکرار انجام شد. هر تکرار شامل ده عدد گلدان سطلی شماره ۱۰ به ابعاد ۲۸ در۲۲/۵سانتی‌متر (ده واحد آزمایشی یا بوته) بود. بطور خلاصه، در هفته پنجم (سه تا چهار برگی) بوته‌ها با غلظت دو در هزار فرمولاسیون حاوی قارچ تریکودرما تیمار شدند. سوسپانسیون‌های تهیه شده از فرمولاسیون روی سطح بالا و زیر برگ ها محلول‌پاشی شد. از قارچ‌کش دومارک به نسبت ۰/٤ در هزار و آب مقطر سترون به عنوان تیمارهای شاهد استفاده شد. از تیمار با بستر فرمولاسیون بدون قارچ نیز برای بررسی تأثیر احتمالی مواد فرمولاسیون استفاده شد. پس از ٢٤ ساعت، مایه زنی بیمارگر در شرایط گلخانه توسط سوسپانسیون اسپورهای تازه *P. xanthii* (۱۰^{5} کنیدیوم در میلی‌لیتر) انجام شد (Kamel, 2015). مایه‌زنی قارچ بیمارگر به روش جمالی زواره و همکاران (۱۳۸۳) انجام شد. بطورخلاصه در این روش از بوته‌های خیار واقع در گلخانه‌های تجاری استان که آلوده به قارچ *P.* xanthii بودند برگ‌هایی را که به تازگی آلوده شده و حامل اسپورهای قارچ بیمارگر بودند، انتخاب و جدا شدند. قطعاتی از این برگ‌ها درون آب مقطرسترون حاوی توئین ۸۰ غوطه‌ور شد و سپس با استفاده از لام هماسیتومتر (Haemacytometer) تعداد اسپور در واحد حجم سوسپانسیون شمارش و روی ۱۰^{5} اسپور در میلی‌لیتر تنظیم شد. بلافاصله با استفاده از یک محلول‌پاش، سوسپانسیون اسپور روی برگ‌های مورد نظر پاشیده شد در حدی که سطح برگ خیس شود اما جاری نشود. بوته‌های مایه‌زنی شده به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۲۲ درجه سلسیوس، در شرایط تاریکی در زیر پوشش پلاستیکی مشکی و رطوبت بالای ۹۰ درصد نگه‌داری و سپس به شرایط عادی گلخانه (دمای بین ۲۱ الی ٢٦ درجه سلسیوس، ۱۲ ساعت روشنایی با شدت آفتاب بین ۲۵ تا ٤۰ هزار لوکس و میانگین رطوبت هوای بین ٦۰ الی ۷۰ درصد) بازگردانده شدند (El- Sharkaway *et al*., 2014). گیاهان به صورت دوره‌ای از نظر علائم ظاهری مورد بررسی قرار گرفته و میانگین شدت بیماری براساس شاخص شدت بیماری با استفاده از مقیاس ۱-۱۲ به روش هورسفال و بارت (۱۹٥٤) انجام شد. اندازه‌گیری شدت بیماری در فواصل زمانی ۵، ۱۰ و ۲۰ روز پس از اعمال تیمارها ارزیابی شد.

درصد شدت بیماری با استفاده از فرمول زیر تعیین شد.

$$PDI = \left(\frac{\sum SDI \times DI}{MDI \times N}\right) \times 100$$

PDI= درصد شدت بیماری، SDI= تعداد نمونه‌های با درجه آلودگی مشابه، DI= درجه بیماری مربوط به هر نمونه، MDI= حداکثر

درجه آلودگی، N= تعداد کل نمونه مربوط به هر تکرار.

آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی اجرا شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و گروه‌بندی میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن با برنامه‌ی نرم افزاری SAS 9.4 انجام شد.

نتایج

بهینه‌سازی محیط کشت برای تولید بیومس قارچ *T. harzianum* k18

نتایج نشان داد بین منابع کربن مورد استفاده و همچنین بین منابع نیتروژن مورد استفاده از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود دارد. همچنین اثر متقابل بین منابع کربن و نیتروژن نیز

معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱). محیط کشت حاوی سبوس گندم و عصاره مخمر با ۸/۹×۱۰^{۷} سلول زنده دارای بیشترین جمعیت اسپور قارچ در محیط کشت بود. کمترین میزان سلول زنده متعلق به محیط‌های کشت حاوی پیت خام با اوره و سبوس جو با اوره با ٤/۱×۱۰^{۵} سلول زنده بود (جدول۲).

جدول ۱- تجزیه واریانس لگاریتم تعداد اسپور زنده قارچ در هر گرم از بستر بعد از ۲۱ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و تاریکی

Table 1. Variance analysis of population of *Trichoderma harzianum* k18 spores log $_{10}$ (CFU) at different substrate after 21 days incubation at 25 °C and darkness

Source of variation	Degree of freedom	Mean of square	F value
Block	2	0.004	14.3
A	4	1.11	3609.12*
B	2	5.99	19440.5*
A*B	8	0.57	1865*
Error	28	0.0003	
CV(%)		1.26	

* وجود اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد

* a statistically significant difference ($P< 0.05$)

جدول۲- مقایسه میانگین لگاریتم تعداد اسپور در هر گرم از بستر بعد از ۲۱ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و تاریکی

Table 2. Comparison of the mean of population of *Trichoderma harzianum* k18 spores log $_{10}$ (CFU) at different substrate after 21 days incubation at 25 °C and darkness

Substrate compounds	Spore population (log CFU per g substrate)
Wheat Bran + Yeast Extract	a 7.95
Pith + Soy bean extract	7.34 b
Rice Bran + Yeast Extract	b 7.36
Wheat Bran + Soy bean extract	b 7.34
Sugarcane pith + Yeast Extract	b 7.33
Barley Bran + Yeast Extract	b 7.32
Sugarcane pith + Urea	c 6.91
Sugarcane pith + Yeast Extract	c 6.91
Pith+ Yeast Extract	d 6.71
Rice Bran + Soy bean extract	e 6.34
Wheat Bran + Urea	6.33e
Barley Bran + Soy bean extract	6.32e
Ricet Bran + Urea	5.91f
Barley Bran + Urea	5.67g
Pith + Urea	5.61g

*میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، اختلاف معنی‌داری ندارند

*Mmeans with the same latter, are not statistically significant different ($P< 0.05$)

پایداری فرمولاسیون‌های مختلف قارچ *T. harzianum* k18 پس از شش ماه نگهداری در دو دمای ٤ و ٢٤ درجه سلسیوس باتوجه به نتایج بدست آمده (جدول ۳) پس از نگهداری به مدت ۱۸۰ روز در دماهای ٤ و ٢٤ درجه سلسیوس، از نظر لگاریتم تعداد سلول زنده در گرم فرمولاسیون‌ها، بین فرمولاسیون‌های مختلف در سطح پنج درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. بر اساس جدول مقایسه میانگین (جدول ٤) بیشترین جمعیت زنده کنیدیوم قارچ در فرمولاسیون تهیه شده از کائولین به همراه مواد کمکی با ۳/۲×۱۰^{٦} سلول زنده قارچ در ٤ درجه سلسیوس و ۱/۱×۱۰^{۵} سلول زنده در هر گرم فرمولاسیون در دمای ٢٤ درجه سلسیوس مشاهده شد که با شاهدها (کائولین بدون ماده افزوه و پرلیت بدون ماده کمکی) و همچنین فرمولاسیون بر پایه پرلیت به همراه مواد افزوده اختلاف معنی‌داری مشاهده شد.

جدول ۳- تجزیه واریانس ماندگاری لگاریتم جمعیت زنده جدایه قارچی *Trichoderma harzianum* k18 در فرمولاسیون‌های مختلف پس از ۱۸۰ روز انبارداری در دماهای ٤ و ٢٤ درجه سلسیوس

Table 3. Variance analysis of viability of *Trichoderma harzianum* k18 spores log $_{10}$ (CFU) at different formulations after 180 days of storage at 4˚ and 24˚

Source of variation	Degree of freedom	Shelf life at 4 °C		Shelf life at 24 °C	
		Mean of square	F Value	Mean of square	F Value
Treatments	3	12.71	2720.20*	4.75	1030.65*
Error	8	0.0004		0.004	
CV (%)		1.62		1.9	

*، وجود اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد

* a statistically significant difference ($P< 0.05$)

بررسی تأثیر فرمولاسیون قارچ *T. harzianum* k18 در شرایط گلخانه

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از ارزیابی فرمولاسیون‌ها در شرایط گلخانه نشان داد که اثر تیمارها بر کاهش شدت

بیماری در مقایسه با شاهد در هر سه بازه زمانی معنی‌دار است (جدول ۵). مقایسه میانگین شدت بیماری نشان داد فرمولاسیون‌ها و قارچ‌کش مورد بررسی در گروه متفاوتی از شاهدها قرار گرفتند *(P< 0.05)*. بعد از ۲۰ روز، درصد شدت بیماری در تیمار با فرمولاسیون قارچ ۳۹/۱٦ درصد بود که در مقایسه با شاهد موجب کاهش ۳۳/۱ درصد شدت بیماری شد. مواد حامل فرمولاسیون قارچ (بدون قارچ) از نظر کاهش شدت بیماری با شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند و در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ٦). روند نتایج به دست آمده در هر سه بازه زمانی بررسی شده با یکدیگر مشابهت داشتند.

جدول ٤- مقایسه میانگین لگاریتم ماندگاری جمعیت زنده جدایه قارچی *Trichoderma harzianum* k18 در فرمولاسیون‌های مختلف پس از نگهداری به مدت ۱۸۰ روز در دمای ٤ و ۲٤ درجه سلسیوس

Table 4. Comparison of the mean of viability of *Trichoderma harzianum* k18 spores log $_{10}$ (CFU) at different formulations after 180 days of storage at 4C°

Formulations	Shelf life (log CFU per g formulation)	
	4c°*	24 c°
1. Kaolin with Adjutants	6.51a	5.07e
2. Perlite with Adjutants	5.38b	4.11b
3.Kaolin	2.48c	2.54c
4. Perlite	2.46c	2.51c

جدول ٥ - تجزیهٔ واریانس اثر تیمارها روی شدت بیماری سفیدک سطحی خیار در شرایط گلخانه

Table 5. Variance analysis of treatments on the severity of cucumber powdery mildew disease in greenhouse conditions

Source of variation	Degree of freedom	After 5 days		After 10 days		After 20 days	
		Mean of square	F value	Mean of square	F Value	Mean of square	F value
Block	2	0/06	0/68 ^{ns}	0/067	0.46 ^{ns}	0.17	0.25^{ns}
Treatments	3	483.37	4902.94*	449/34	3066/52*	523/65	780/49*
Error	6	0/098	-	0/14	-	0/68	-
Total	11	-	-	-	-	-	-
CV (%)	-	1.08		1.004		1.77	

جدول ٦- مقایسهٔ میانگین اثر حفاظتی تریکودرمای فرموله شده، قارچ کش دومارک و مواد افزودنی فرمولاسیون روی شدت بیماری سفیدک سطحی خیار و درصد کاهش آن در شرایط گلخانه

Table 6. Comparison of the average protective effect of formulated Trichoderma, Dumark fungicide, and formulation carriers on the severity of cucumber powdery mildew disease and its reduction in greenhouse conditions the mean percentage of Powdery mildew disease severity and the percentage of reduction of Powdery mildew disease severity in different treatments

Treatments	After 5 days		After 10 days		After 20 days	
	Disease severity %	Efficacy%	Disease severity %	Efficacy%	Disease severity %	Efficacy%
***Trichoderma* isolate formulation**	16.4b	60.39	25.94b	48.44	32.44b	45.42
Fungicide (Dumark)	16.39b	50.42	25.4b	48.62	31.78b	46.53
Formulation carriers	39.71a	4.09	48.68a	5.57	58.63a	1.35
Control	41.4a	-	49.43a	-	59.43a	-

بحث

قارچ *T. harzianum* یکی از عوامل موفق مهار زیستی است که به صورت تجاری برای جلوگیری از توسعهٔ برخی بیمارگرهای قارچی تولید می‌شود (Subash *et al.,* 2014). هزینه‌های بالای اقتصادی یکی از محدودیت‌های اساسی تولید است که برای غلبه بر این محدودیت و افزایش کمیت و کیفیت تولید انبوه عامل مهار زیستی، می‌توان از محیط‌های کشت مناسب و ارزان قیمت به عنوان یکی از فاکتورهای مؤثر در تولید انبوه استفاده کرد (Verma *et al.,* 2007). به عبارتی، نوع و میزان کربن و نیتروژن را می‌توان یکی از فاکتورهای محیطی مؤثر بر رشد غیرجنسی تریکودرما عنوان کرد (Steyaert *et al.,* 2010).

بر اساس نتایج این بررسی از بین ۱۵ بستر بررسی شده، بهترین بستر با بیشترین جمعیت اسپور بعد از ۲۱ روز مربوط به بستری می‌باشد که در آن از سبوس گندم به عنوان منبع کربن و از عصاره مخمر به عنوان منبع نیتروژن استفاده شده بود. **سبوس** گندم منبع غنی از سلولز، همی‌سلولز و مواد معدنی است که توسط این جدایه تریکودرما به‌راحتی تجزیه می‌شود. عصاره مخمر در تأمین نیتروژن آلی، ویتامین‌ها (مانند تیامین) و فاکتورهای رشد که برای متابولیسم قارچ ضروری است مؤثر می باشد. به نظر می‌رسد منابع نیتروژن آلی (عصاره مخمر) در مقایسه با غیرآلی (اوره) با فیزیولوژی این جدایه تریکودرما سازگارتر است. استفاده از بسترهایی مختلفی مانند سورگوم، سبوس گندم، ملاس خاک اره و پوست بادام‌زمینی (Saju *et al.,* 2002) ضایعات میوه و سبزیجات، کود مرغی، تفاله قهوه و کمپوست برای تولید قارچ تریکودرما گزارش شده است (Sangle and Bambawale, 2005). تولید انبوه تریکودرما در بسترهای مختلف به توانایی جدایه در استفاده از نوع منابع کربن و نیتروژن دارد (Sachdev *et al.,* 2018) و همان‌طور که Sachdev and Singh (2018) تأکید کرده‌اند، پاسخ به بستر به‌شدت به سویه بستگی دارد. راما و همکاران (Rama *et al.,* 2001) ملاس نیشکر را بهترین بستر برای *T. ressei* ، تفاله چای به‌همراه سبوس گندم را بهترین بستر برای *T. viride* و *T. koningii*، و سبوس گندم به همراه کاه گندم را به عنوان بهترین بستر برای تولید حداکثر بیومس *T. harzianum* معرفی کردند، درحالی که در پژوهش ما سبوس گندم به تنهایی برتر بود و ممکن است سویه K18 مورد استفاده حاضر، توانایی بالاتری در هضم سبوس گندم خالص داشته باشد. در مطالعه دیگری از بین پنج بستر مورد بررسی بیشترین جمعیت زنده *T. harzianum* در بستر سبوس گندم مشاهده شد. جمعیت سلول زنده قارچ تریکودرما ۲۱ روز پس از مایه‌زنی $۲/٤\times ۱۰^{٦}$ سلول زنده ارزیابی شد (Pan and Jash, 2010). در این پژوهش سعی بر این بود که در نهایت محیط کشتی معرفی شود که در مقیاس تجاری و صنعتی قابل توجیه باشد و بر اساس نتایج حاصل و در نظر گرفتن صرفه اقتصادی با توجه به هزینه بسیار پایین و عملکرد بالای سبوس گندم، می‌توان از آن به طور بسیار گسترده‌ای در تولید قارچ تریکودرما استفاده کرد. معرفی سبوس گندم نه فقط به دلیل عملکرد، بلکه به دلیل هزینه بسیار پایین، انتخابی کلیدی است و راهکار را برای مقیاس صنعتی عملی می‌سازد. از طرفی پژوهش حاضر نه تنها بهترین بستر را برای سویه خاص *T. harzianum* شناسایی کرده، بلکه با تمرکز بر اقتصاد تولید، پلی بین پژوهش پایه و کاربرد صنعتی زده است. تناقض‌ها با مطالعات دیگر عمدتاً ناشی از ویژگی‌های ذاتی سویه‌ها بوده و بر اهمیت بهینه‌سازی سویه‌محور در تولید تریکودرما تأکید می‌کند.

کاربرد تجاری تریکودرما به عنوان عامل بیوکنترل تا حد زیادی به توانایی مقاومت در برابر تنش‌ها (مانند دمای بالا، خشک شدن، مقاومت به اشعه ماوراء بنفش و غیره) و پایداری در دوره انبارمانی بستگی دارد (Alfiky and Weisskopf, 2021). در حال حاضر دو فن‌آوری اصلی برای رسیدن به این اهداف وجود دارد. یکی از روش‌ها کاهش اسیدیته و تنظیم استفاده از اکسیژن به منظور القا تولید کلامیدوسپور مقاوم به تنش می‌باشد. روش دیگر اضافه کردن برخی مواد افزودنی (مانند مس) به فرمولاسیون می‌باشد (Monfil and Casas-Flores, 2014). نتایج

ارزیابی پژوهش ما نشان از ماندگاری جمعیت سلول زنده *T. harzianum* K18 در هر دو فرمولاسیون (بر پایه کائولین و پرلیت) داشت و اضافه کردن مواد افزوده مانند کربوکسی‌متیل-سلولز و گلیسرول به فرمولاسیون‌ها موجب افزایش پایداری فرمولاسیون‌ها در هر دو دمای ٤ و ٢٤ درجه سلسیوس پس از شش ماه نگهداری شد. گلیسرول که یک ماده مرطوب کننده می‌باشد و با القا تولید تری‌هالوز موجب مقاومت به خشکی می‌شود، به منظور افزایش زنده‌مانی از آن استفاده می‌شود (Jin *et al.*, 1991). کربوکسی متیل سلولز در واقع شکل محلول در آب سلولوز است که در ترکیب با سورفکتانت موجب افزایش چسبندگی و تر شوندگی (wettability) فرمولاسیون در بسترهای آبگریز مانند خاک، ریشه، دانه یا برگ می‌شود (Castroet *al.*, 201). همچنین مطالعات نشان داده شده که استفاده از کربوکسی متیل سلولز موجب افزایش پایداری *T. harzianum* در فرمولاسیون شده است (di Gennaro *et al*., 2024). براساس نتایج بین دو فرمولاسیون تهیه شده، فرمولاسیون بر پایه کائولین ماندگاری بالاتری نسبت به فرمولاسیون بر پایه پرلیت داشت. زهار پرز از کائولین برای تهیه فرمولاسیون *T. harzianum* استفاده کرد و بر اساس نتایج اضافه کردن کائولین موجب افزایش ضخامت دیواره سلولی و در نتیجه افزایش تعداد سلول‌های زنده در طول دوره نگهداری شد (Zohar-Perez *et al.*, 2003). در یک مطالعه مشابه که از کربوکسی‌متیل‌سلولز برای فرمولاسیون *T. zelobreve* T20 استفاده شده بود جمعیت زنده قارچ بعد از چهار ماه به حدود ۷۱/٥٤ درصد جمعیت اولیه در فرمولاسیون تالک رسیده بود (Ranjbar *et al.*, 2023). همچنین در بررسی یک فرمولاسیون بر پایه کائولین همراه با کربوکسی-متیل‌سلولز بعد از شش ماه فقط ٥۰ درصد از جمعیت اولیه قارچ تریکودرما زنده بود (Sriram *et al.*, 2011). تعداد کنیدیوم در فرمولاسیون‌های تجاری *Trichoderma* بین ۱×۱۰^{۵} تا ۱×۱۰^{۸} سلول زنده در هر گرم محصول می‌باشد (Sokhandani *et al.*, 2016). به طور مثال Trianum-G® یک فرم تجاری از *T. harzianum* می‌باشد که پس از شش ماه نگهداری در دمای ٤ تا ۸ درجه سلسیوس ماندگاری حدود ۱×۱۰^{۸} از خود نشان داد (Martinez *et al.*, 2023). محصول بیناب تی(BINAB®T) یک فرم تجاری از *T. atrovirid* می‌باشد که دارای حداقل ۱×۱۰^{۵} سلول زنده در گرم فرمولاسیون پس از یک ماه نگهداری در دمای ٤ درجه سلسیوس می‌باشد (Martinez *et al.*, 2023). فرمولاسیون تهیه شده در این بررسی با جمعیت سلول زنده در حدود $۳/۲\times۱۰^{۶}$ و $۱/۱\times۱۰^{۵}$ در دمای نگهداری ٤ و ٢٤ درجه سلسیوس، در محدوده قابل قبول از نظر تعداد سلول زنده قرار می‌گیرد.

پس از تهیه فرمولاسیون‌ها و ارزیابی جمعیت سلول زنده قارچ *T. harzianum* K18 در فرمولاسیون‌ها، بهترین فرمولاسیون بر پایه جمعیت زنده بعد از شش ماه برای ارزیابی قابلیت کنترل سفیدک پودری خیار در گلخانه انتخاب شد. نتایج مطالعات گلخانه‌ای نشان داد که کاربرد فرمولاسیون تهیه شده از قارچ *T. harzianum* K18 پس از آلودگی بوته‌های خیار به سفیدک سطحی قادر به کاهش درصد شدت بیماری به میزان قابل توجهی می‌باشد. شدت بیماری در تیمار شاهد ۲۰ روز پس از از مایه‌زنی گیاهان با بیمارگر ۳۹/۷٦ درصد بود و تیمار فرمولاسیون جدایه قارچی موفق به کاهش ۳۳/۱ درصد از درصد شدت بیماری در مقایسه با شاهد شده بود که با تیمار قارچ‌کش(دومارک) اختلاف معنی‌داری نداشت.

به‌طور کلی این یافته‌ها حداقل دو دستاورد عمده در جهت تجاری‌سازی موفق عوامل بیوکنترل مبتنی بر تریکودرما هارزیانوم با کاهش هزینه تولید و افزایش پایداری و کارایی میدانی داشته است. اول اینکه تولید انبوه مقرون‌به‌صرفه این جدایه از قارچ تریکودرما با معرفی ترکیب سبوس گندم + عصاره مخمر به‌عنوان محیط کشت بهینه و اقتصادی امکانپذیر است. دوم اینکه امکان تولید فرمولاسیون پایدار و مؤثر بر پایه کائولین حاوی گلیسرول و CMC همراه با ماندگاری بالا در انبار و مطابق با استانداردهای تجاری وجود دارد که نشان از پتاسیل این فرمولاسیون معادل قارچ‌کش شیمیایی در کنترل سفیدک پودری خیار است..

در پایان، این پژوهش پتانسیل تبدیل شدن به یک الگوی فناورانه پایداردر مدیریت تلفیقی آفات (IPM) را دارد. تمرکز آینده باید بر پل زدن بین آزمایشگاه و مزرعه از طریق افزایش مقیاس تولید با حفظ کیفیت اثربخشی، اثبات در شرایط متنوع اقلیمی، کاهش هزینه‌های نهایی برای کشاورز و تضمین پایداری اکولوژیک باشد. دستیابی به این اهداف، *Trichoderma* را از یک عامل امیدبخش به یک راهکار عملیاتی غالب در کشاورزی پایدار تبدیل خواهد کرد.

سپاسگزاری

این پژوهش مستخرج از نتایج پروژه تحقیقاتی با شماره مصوب ۰۱۳-۳۶-۱۶۰۵-۰۸۱-۰۰۰۳۴-۰۰۰۸۴۴ می‌باشد. نویسندگان از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی استان آذربایجان غربی و مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی استان گلستان به‌دلیل در اختیار قراردادن برخی امکانات پژوهشی و همچنین از تمام دست‌اندرکاران به خاطر همکاری‌های ارزشمندشان تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References

ABOOA AL-JANABIi, A. and K. JAWAD, 2012. Induction of resistance in cucumber plants against powdery mildew disease caused by *Podosphaera xanthii* using salicylic acid and *Trichoderma harzianum*, Journal of Babylon University/Pure and Applied Sciences, No. 4: 21. DOI: https:// doi.org/10.21608/zjar.2016.101574

ALFIKYl, A. and L. WEISSKOPF, 2021. Deciphering *Trichoderma*-plant-pathogen interactions for better development of biocontrol applications, Journal of Fungi, No. 7: 61. DOI: https:// doi.org/10.3390/jof7010061

BETTIOLl, W. and M.A.B. MORANDI, 2008. *Trichoderma* in Brazil, history, research, commercialization and perspectives. p. 235–237. In: "Molecular Tools for Understanding and Improving Biocontrol" (B. Duffy, M. Maurhoffer, C. Keel, C. Gessler, Y. Elad, S. Klewnick, eds.). 10th meeting of the working group "Biological Control of Fungal and Bacterial Plant Pathogens", Interlaken, Switzerland, 9–12.

CASTRO, M.J., C. OJEDA, and A.F. CIRELLI, 2014. Advances in surfactants for agrochemicals, Environmental chemistry letters, No. 12: 85− 95. DOI: https:// doi.org/10.1007/s10311-013-0432-4.

DI GENNARO, M., F. DELLA SALAl, F. VINALE, and A. BORZACCHIELLO, 2024. Design of Carboxymethylcellulose/Poloxamer-Based Bioformulation Embedding *Trichoderma afroharzianum* for Agricultural Applications, Langmuir, No. 40: 12159-12166. DOI: https:// doi.org/10.1021/acs.langmuir.4c01038

DUGASSA, A., T. ALEMUl, and Y. WOLDEHAWARIAT, 2021. In-vitro compatibility assay of indigenous Trichoderma and Pseudomonas species and their antagonistic activities against black root rot disease (*Fusarium solani*) of faba bean (*Vicia faba* L.), BMC Microbiology, No. 21: 115. DOI: https:// doi.org/10.1186/s12866-021-02181-7.

ELSHARKAWY, M.M., S. KAMEL, M. NAGWA, M. EL-KHATEEB, 2014. Biological Control of Powdery and Downy Mildews of Cucumber Under Greenhouse Conditions, Egyptian Journal of Pest Control, No. 2:407-414.

HAFEZ, Y.M., A.S. EL-NAGAR, A.A. ELZAAWELY, S. KAMEL, and H. F. MASWADA, 2018. Biological control of *Podosphaera xanthii* the causal agent of squash powdery mildew disease by upregulation of defense-related enzymes, Egyptian Journal of Biological Pest Control, No. 28, 57. DOI: https:// doi.org/10.1186/s41938-018-0058-8.

INTANA, W., S. KHEAWLENG, and A. SUNPAPAO, 2021. *Trichoderma asperellum* T76-14 released volatile organic compounds against postharvest fruit rot in muskmelons (*Cucumis melo*) caused by *Fusarium incarnatum*, Journal of Fungi, No. 7: 46. DOI: doi.org/10.3390/jof7010046.

KAMEL, E. 2015. Fuzzy Decoupling Control of Greenhouse Climate, Engineering. No. 11: 23-29. DOI: https://doi.org/10.1007/s13369-015-1719-5

MARTINEZ, Y., J. RIBERA, W. FRANCIS M.R. SCHWARZE, and K. DE FRANCE, 2023. Applied Microbiology and Biotechnology, No. 107: 5595–5612.

MISHRA , J. and N. ARORA , 2016. Bioformulations for Plant Growth Promotion and Combating Phytopathogens: A Sustainable Approach, In book: Bioformulations: for Sustainable Agriculture, DOI: https://doi.org/10.1007/978-81-322-2779-3_1

MONFIL, V.O. and S. CASAS-FlORES, 2014. Molecular Mechanisms of Biocontrol in Trichoderma spp. and Their Applications in Agriculture, In: Gupta, M.S.V., Herrera-Estrella, A., Upadhyay, R., Druzhinina, I. and Tuohy, M., Eds., Biotechnology and Biology of Trichoderma, Elservier, Amsterdam, the Neterlands, 429-453. DOI: https:// doi.org/10.1016/B978-0-444-59576-8.00032-1.

MULATU, A., T. ALEMU, N. MEGERSA, and R.R. VETUKURI, 2021. Optimization of Culture Conditions and Production of Bio-Fungicides from *Trichoderma* Species under Solid-State Fermentation Using Mathematical Modeling, Microorganisms, No. 9: 1675. DOI: https://doi.org/10.3390.

PAN, S. and S. GASG, 2010. Low cost bioformulation of *Trichoderma harzianum* for biological control of plant disease, Journal of Journal of Mycopathological Research, No. 48: 51-56.

RAMA, S.S., H.V. SINGH. P. SINGH, and J. KAUR, 2001. A comparison of different substrates for the mass production of *Trichoderma*, Annual Pl Protec Science, No. 6: 248–253.

RANJBAR, Z., M. SALEHI, and N. SAFAIE, 2023. An endophytic *Trichoderma*-based wettable powder formulation for biocontrol of apple stem cankers, Journal of Phytopathology, No. 172: 132-166. DOI: https:// doi.org/10.1111/jph.13266.

SAJU, K., M. ANANDARAJ, and Y. SARMA, 2002. On farm production of *Trichoderma harzianum* using organic matter, Indian Phytopathology, No. 55: 277–281.

SACHEDEV, S., A. SINGH, and R.P. SINGH. 2018 . Optimization of culture conditions for mass production and bioformulation of *Trichoderma* using response surface methodology, Biotechnology, No. 8: 360. DOI: https:// doi.org/10.1007/s13205-018-1360-6.

SANGLE, U. and O. BABBAWALE, 2005. Evaluation of substrates for mass multiplication of *Trichoderma* spp, Indian Journal of Plant Protection, No. 33: 298.

SINGH, A K. A. KUMAR, and P.K. SINGH, 2018. PGPR amelioration in sustainable agriculture. Food security and environmental management, (1st ed. Pp. 284). eBook ISBN: 9780128160190.

SRIRAM, S., K.P. ROOPA, and M.J. SAVITHA, 2011. Extended shelf-life of liquid fermentation derived talc formulations of *Trichoderma harzianum* with the addition of glycerol in the production medium, Crop Protection, No. 30: 1334–1339. DOI: https:// doi.org/10.1016/j.cropro.2011.06.003.

STEYARET, J.M., R.J. WELD, A. MENDOZA, and A. STEWART, 2010. Microbiology, Reading, England. No. 156: 2887—900.

SUBASH, N., M. MEENAKSHISUNDARM, C. SASIKUMAR, and N. UNNAMALIA, 2014. Mass cultivation of *Trichoderma harzianum* using agricultural waste as a substrate for the management of damping off disease and growth promoting in chili plants (*Capsicum annuum* L.), International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 5: 188-192.

THANGAVELU, R., P. SUNDARARAJU, S. SATHIAMOORTHY, T. RANGHUCHANDER, R. VELAZHAHAN, S. NAKKEERAN, and A. PALANISWAMI, 2001. Status of Fusarium wilts of banana in India, In: Molina, A.B., N.H. NIKMASDEK, K.W. LIEW, (Eds.), Banana Fusarium Wilt Management: Towards Sustainable Cultivation. INIBAP-ASPNET, Los Banos, Laguna, Philippines, Pp. 58–63.

TEWANI, L. and C. BHANU, 2004. Evaluation of agro-industrial waste for conidia-based inoculum production of biocontrol agent: *Trichoderma*

harzianum, Journal of Scientific and Industrial Research, No. 63: 807–812.

TYŚKIEWICZ, R., N. ARTUR, O. EWA, J. JAROSZUK-ŚCISEŁ. 2022. Trichoderma: The Current Status of Its Application in Agriculture for the Biocontrol of Fungal Phytopathogens and Stimulation of Plant Growth. Science, No. 24: 2329. DOI: https:// doi.org/ 10.3390/ijms23042329

VERMA, M., S.K. BRAR, R.D. TYAGI, R.Y. SURAMPALLI, and J.R. VALERO, 2007. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: panoply of biological control, Biochemistry Engineering Journal, No. 37: 1–20. DOI: https:// doi.org/10.1016/j.bej.2007.05.012

ZHANG, Y., J. XIAO, K. YANG, Y. WANG, Y. TIAN, and Z. LIANG, 2022. Transcriptomic and metabonomic insights into the biocontrol mechanism of *Trichoderma asperellum* M45a against watermelon Fusarium wilt, PLoS One, No. 10:17. DOI: https:// doi.org/10.1371/journal.pone.0272702

ZHANG, C., W. WANG, M. XUE, Z. LIU, Q. ZHANG, and J. HOU, 2021. The combination of a biocontrol agent *Trichoderma asperellum* SC012 and hymexazol reduces the effective fungicide dose to control Fusarium wilt in cowpea, Journal of Fungi, No. 7: 685. DOI: https://doi.org/10.3390/jof7090685

ZOHAR-PEREZ, L., I. CHEMIN, and A. HETC, 2003. Nussinovitch, Structure of dried cellular alginate matrix containing fillers provides extra protection for microorganisms against UVC radiation, Radiation Research, 160: 198–204. DOI: https://doi.org 10.1667/rr3027