The University of Tehran Press

Biological Control of Pests and Plant Diseases

Online ISNN: 2322-2883

Homepage: https://jbiocontrol.ut.ac.ir/

Induction of resistance in tomato against Fusarium wilt under salinity stress using *Bacillus velezensis* UTB96

Akram Shanaghi[1], Somayeh Rahimi-Kaldeh[2], Hossein Saremi[3], Masoud Ahmadzadeh[4]✉

1. Plant Protection Department, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: akram.shanaghi@ut.ac.ir
2. Plant Protection Department, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: s.rahimik@ut.ac.ir
3. Plant Protection Department, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Email: hsn.saremi@ut.ac.ir
4. Corresponding Author, Plant Protection Department, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, Email: ahmadz@ut.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 2 April 2024

Revised: 29 May 2024

Accepted: 9 June 2024

Published online: Spring 2023

Keywords:

Bacillus velezensis,

Fusarium oxysporum,

abiotic and biotic stresses,

biological control.

ABSTRACT

The behavior and survival of soil-borne pathogens like *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) are affected by soil salinity. Therefore, salinity could be an important factor in the increasing disease incidence in crops such as tomato plants. However, plant probiotic bacteria can improve plant growth in saline soil. This research was carried out to control the Fusarium wilt disease in tomato under salinity stress by using *Bacillus velezensis* UTB96. We investigated the effect of salinity stress on FOL behavior and survival at 75 mmol NaCl. Moreover, the inhibition effect of *B. velezensis* UTB96 on Fusarium wilt disease was investigated in laboratory and greenhouse conditions. The results showed that salinity stress positively affected fungal biomass and sporulation, but it did not affect radial growth. In greenhouse conditions, the Disease Index (DI) of Fusarium wilt increased by 12% in the presence of 75 mmol NaCl compared to control plants. Application of *B. velezensis* UTB96 reduced DI in tomato plants to the extent of 48% under saline stress as compared to 68% in the control treatment (no saline condition). The present study demonstrates that saline stress positively affects FOL behavior and pathogenicity, and *B. velezensis* UTB96 can improve tomato plant health against Fusarium wilt disease under salinity stress.

Cite this article: Shanaghi, A., Rahimi-kaldeh, S., Saremi, H. & Ahmadzadeh, M. (2023). Induction of resistance in tomato against Fusarium wilt under salinity stress using *Bacillus velezensis* UTB96. *Biological Control of Pests and Plant Diseases*, 12 (1), 47-59. DOI: https://doi.org/10.22059/JBIOC.2024.371914.331

© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.

DOI: https://doi.org/10.22059/JBIOC.2024.371914.331

Extended Abstract

Introduction

Biotic and abiotic environmental stresses are among the most limiting factors to plant growth and productivity. Among these factors, salinity stress is a kind of abiotic stress that negatively affects plant growth and crop productivity. In addition to damaging the plant, salinity affected the survival and behavior of soil-borne pathogens like *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) and increased the susceptibility of plants to the pathogens. Therefore, salinity could be an important factor in the increasing disease incidence in crops such as tomato plants. However, the application of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPRs) in agricultural lands instead of chemical methods is regarded as a practical eco-friendly strategy to promote plant growth, protect plants from soil-borne pathogens, and enhance abiotic stress tolerance in plants. PGPRs colonize plant roots and aid plants to uptake nutrients from soil through nitrogen fixation, iron sequestration, and phosphate solubilization. In addition, they play an important role to control plant pathogens thanks to their ability to

produce different kinds of molecules including: antibiotics, siderophores, extracellular hydrolytic enzymes, etc. PGPRs alleviate abiotic stress tolerance by diverse mechanisms encompasse, osmolyte accumulation, Na^+ sequestration, hydraulic conductance, and photosynthetic activities maintenance. During preceding studies: *Bacillus velezensis* UTB96 (GenBank accession number CP036527) was isolated from the soil of the pistachio tree in an extensive screening of the plant probiotic bacterial community in Kerman, Iran. Out of the thousands isolated strains, UTB96 had the highest antifungal activity against *Aspergillus flavus*. Likewise, strain UTB96 was able to degrade the aflatoxin produced by *Aspergillus flavus* on pistachio nuts. UTB96 produces spores that are proof against high temperature, drought, and salinity, and so on assist them in tolerance to adverse conditions in the long term. This research was carried out to control the Fusarium wilt disease in tomato under salinity stress by using *Bacillus velezensis* UTB96.

Materials and methods

To obtain the effect of salinity stress on FOL behavior (radial growth, sporulation, and biomass of fungal), the following laboratory assays were performed, 5 mm disc of FOL was grown on potato-dextrose agar that was mixed with 75 mmol NaCl and incubated for 7 days. After the incubation period, radial growth was measured. Then, for total spore count, a 5mm disc was taken from the center of the FOL culture on PDA, dissolved in 2 ml of distilled water in a vial, and vortexed. A drop of the spore suspension was placed in a hemocytometer and counted under a light microscope. Fungal biomass of FOL was measured by culturing the 5 mm disc of fungus on potato-dextrose broth with 75 mmol NaCl that was incubated in a shaker incubator for 10 days. Moreover, the inhibition effect of *B. velezensis* UTB96 on Fusarium wilt disease was investigated in laboratory and greenhouse conditions. In laboratory assay, the antagonist effect of *B. velezensis* UTB96 on FOL was evaluated according to Vero et al., (2009). To explore the effect of *B. velezensis* UTB96 on the control of Fusarium wilt under salinity stress, this greenhouse experiment was carried out. before transplanting, firstly, the root of seedlings were submerged in *B. velezensis* UTB96 spore suspension containing 10^8 CFU/ml for 3 min, Then they were submerged in FOL microconidia suspension containing 10^6 spore/ml for 3 min, then they were transferred to pots filled with sterilized potting mixture (one seedling per pot). The pots were maintained in a greenhouse at 26±6 ˚C and were irrigated every 2 days with corresponding salt solution (0 or 75mmol NaCl). The experiment was carried out in a completely randomized design with four replicates. The external disease severity was evaluated weekly according to the following scale adapted from Tokeshi and Galli (1966).

Results

The results showed that salinity stress positively affected fungal biomass and sporulation, but it did not affect radial growth. In laboratory assay, the antagonist effect of *B. velezensis* UTB96 on FOL reduced by 24% in the presence of 75 mmol NaCl compared to control. The effect of UTB96 on controlling Fusarium wilt disease under salinity stress differed significantly between the treatments in greenhouse conditions. the disease Index (DI) of Fusarium wilt disease increased by 12% in the presence of 75 mmol NaCl compared to control plants. Application of *B. velezensis* UTB96 reduced DI in tomato plants to the extent of 48% under saline stress as compared to 68% in the control treatment (no saline condition).

Conclusion

The present study demonstrates, that saline stress positively affects FOl behavior and pathogenicity, and *B. velezensis* UTB 96 can improve tomato plant health against Fusarium wilt disease under salinity stress.

.

نشریه کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی، دوره ۱۲، شماره ۱

انتشارات دانشگاه تهران

شاپا الکترونیکی: ۲۴۲۳-۸۰۹۰

Homepage: https://jbiocontrol.ut.ac.ir/

القای مقاومت گوجه‌فرنگی به پژمردگی فوزاریومی تحت تنش شوری با استفاده از باکتری *Bacillus velezensis* UTB96

اکرم شانقی[۱] | سمیه رحیمی کلده[۲] | حسین صارمی[۳] | مسعود احمدزاده[۴] ✉

۱. گروه گیاهپزشکی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: akram.shanaghi@ut.ac.ir

۲. گروه گیاهپزشکی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: s.rahimik@ut.ac.ir

۳. گروه گیاهپزشکی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: hsn.saremi@ut.ac.ir

۴. نویسنده مسئول، گروه گیاهپزشکی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران .رایانامه: ahmadz@ut.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۲

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۳/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۰

تاریخ انتشار: بهار ۱۴۰۲

کلیدواژه‌ها:

کنترل بیولوژیک، تنش‌های زنده و غیرزنده، Fusarium oxysporum، Bacillus velezensis.

چکیده

تنش شوری یکی از تنش‌های غیرزیستی مهم نه تنها اثر منفی بر رشد و عملکرد گیاهان دارد، بلکه رفتار و زنده‌مانی بیمارگرهای خاکزاد مانند *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) را تحت‌تاثیر قرار می‌دهد. بنابراین، تنش شوری می‌تواند به عنوان فاکتوری مهم در افزایش شدت بیماری در محصولات کشاورزی همچون گوجه‌فرنگی عمل کند و باعث کاهش تولید و عملکرد آن‌ها شود. با وجود این، باکتری‌های پروبیوتیک گیاهی به واسطه توانایی آن‌ها در تولید ترکیبات محرک رشد و کاهش دهنده اثر تنش شوری، می‌توانند رشد گیاهان را در شرایط تنش شوری بهبود بخشند و باعث بهبود مقاومت آن‌ها در برابر بیماری‌های خاکزاد شوند. این پژوهش با هدف کنترل بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی با استفاده از باکتری *Bacillus velezensis* UTB96 تحت تنش شوری انجام شد. اثر تنش شوری بر رفتار و زنده‌مانی قارچ FOL در غلظت ۷۵ میلی‌مول نمک (NaCl) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین اثر بازدارندگی باکتری UTB96 بر قارچ FOL در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای بررسی شد. نتایج نشان داد، شوری اثر مثبت بر هاگ‌زایی و زیست‌توده قارچ موردمطالعه دارد، اما در اندازه شعاع کلونی تغییری ایجاد نشد. براساس آزمایش‌های گلخانه‌ای، شدت بیماری‌زایی (پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی) در غلظت ۷۵ میلی‌مول نمک، ۱۲درصد نسبت به شرایط عادی (فاقد نمک) افزایش یافت. باکتری UTB96 توانست شدت بیماری‌زایی را در شرایط شوری و شرایط غیرشوری به ترتیب به میزان ۴۸ و ۶۸ درصد کنترل کند. مطالعه حاضر نشان داد، تنش شوری اثر مثبت بر رفتار و بیماری‌زایی قارچ FOL دارد. باکتری UTB96 می‌تواند سلامت گیاه گوجه‌فرنگی را در برابر بیماری پژمردگی فوزاریومی تحت تنش شوری بهبود بخشد.

استناد: شانقی، اکرم؛ رحیمی کلده، سمیه؛ صارمی، حسین و احمدزاده، مسعود (۱۴۰۲). القای مقاومت گوجه‌فرنگی به پژمردگی فوزاریومی تحت تنش شوری با استفاده از باکتری *Bacillus velezensis UTB96*. *نشریه کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی* ، ۱۲ (۱)، ۵۹-۴۷.
DOI: https://doi.org/10.22059/JBIOC.2024.371914.331

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: https://doi.org/10.22059/JBIOC.2024.371914.331

مقدمه

گیاه گوجه‌فرنگی سرشار از مواد مغذی است که برای سلامت بدن و پوست و کاهش وزن بسیار مفید است. علاوه بر این، مصرف گوجه‌فرنگی می‌تواند خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی و سرطان پروستات را کاهش دهد (De Sio *et al.*, 2021). به همین سبب، این گیاه یکی از محبوب‌ترین سبزیجات در سبد مصرفی خانوار است که به صورت گسترده در ایران و سراسر جهان در شرایط گلخانه و مزرعه کشت می‌شود. براساس گزارش سازمان خوار و بار جهانی، در سال ۲۰۲۲ حدود ۱۸۶/۱۰۷/۹۷۲ تن گوجه‌فرنگی از ۴/۹۱۷/۷۳۵ هکتار زمین در سطح جهان برداشت شده است (FAOSTAT, 2023). متاسفانه، عوامل مختلفی مانند تنش‌های زیستی و غیر زیستی، پرورش گیاه گوجه‌فرنگی را تحت تاثیر قرار داده و تولید و عملکرد این گیاه را کاهش می‌دهد.

تنش‌های غیرزیستی مانند شوری، خشکی، سرما و گرما تا ۷۰ در صد بر بقا، تولید زیست‌توده و عملکرد محصولات کشاورزی اصلی تاثیر منفی می‌گذارند (Vorasoot *et al.*, 2003; Kaur *et al.*, 2008). در میان تنش‌های غیرزیستی، تنش شوری یکی از جدی‌ترین عوامل محدودکننده رشد و تولید محصولات کشاورزی است (Dorighello *et al.*, 2008). وجود نمک در خاک، توانایی گیاه در جذب آب را کاهش می‌دهد و این امر منجر به کاهش سرعت رشد، کاهش زیست توده و عملکرد سبزیجات متنوع تحت تنش شوری شده است (Giuffrida *et al.*, 2013). در مقایسه با سایر سبزیجات، حساسیت گیاه گوجه‌فرنگی نسبت به تنش شوری بیش‌تر است (Machado & Serralheiro, 2017). به طوری‌که گیاه گوجه‌فرنگی سطوح شوری تا ۳ دسی‌زیمنس بر مترمربع را تحمل می‌کند (Koleska *et al.*, 2017). تنش شوری سبب سمیت یونی، اختلالات تغذیه‌ای، تنش اکسیداتیو (ROS)، تغییر فرآیندهای متابولیکی، اضمحلال غشای سلولی، کاهش گسترش و تقسیم سلولی می‌شود (Pariad & Das, 2005; Ilangumaran & Smith, 2017; Orozco-Mosqueda *et al.*, 2019). این اثرات باهم، رشد، توسعه و بقای گیاهان را کاهش می‌دهند. شوری علاوه بر تاثیر بر گیاهان، بر بقا و رفتار بیمارگرهای خاکزاد نیز تاثیر گذاشته و حساسیت به بیماری را افزایش می‌دهد. بنابراین شوری می‌تواند عامل مهمی در افزایش بروز بیماری در محصولات زراعی باشد (Pendey *et al.*, 2017). حساسیت برخی از محصولات به شبه‌قارچ‌های خاکزاد مثل: *Phytophthora* spp. و *Pythium ultimum* در شرایط تنش شوری گزارش شده است (Rasmussen & Stanghellini 1988; Sanogo, 2004).

بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی که عامل آن بیمارگر قارچی خاکزاد، *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* می‌باشد، یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گوجه‌فرنگی از نظر اقتصادی در سراسر جهان است که از ۳۲ کشور گزارش شده است (Ozgonen *et al.*, 1999; Reis *et al.*, 2005). واکنش *F. oxysporum* به تنش شوری به فرم‌های اختصاصی آن و میزبان‌های آن وابسته است. با این وجود، افزایش شدت بیماری‌زایی تحت تنش شوری در *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, *F. oxysporum* f. sp. radicis-*lycopersici* و همچنین *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* گزارش شده است (Besri 1980; Turco *et al.*, 2002; Triky *et al.*, 2005). پس تنش ترکیبی شوری و بیماری می‌تواند به یک نگرانی جهانی برای تولیدکنندگان محصولات کشاورزی تبدیل شود. از این رو پژوهشگران به دنبال راهکارهایی برای کاهش خسارت ناشی از این تنش‌ها می باشند.

امروزه، استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک گیاهی، یک روش کاربردی و سازگار با محیط زیست برای افزایش رشد و عملکرد گیاهان، محافظت از آن‌ها در برابر بیمارگرهای خاکزاد و افزایش تحمل گیاهان در برابر تنش‌های غیرزیستی مثل تنش شوری است. این باکتری‌ها، ریشه گیاهان را کلنیزه کرده و به آن‌ها در جذب مواد غذایی به واسطه تثبیت نیتروژن، تولید سیدروفور و حل کردن فسفر کمک می‌کنند. همچنین، نقش مهمی در حفاظت از گیاهان در برابر بیمارگرها ازطریق تولید ترکیبات ضدقارچی ازجمله فنجایسین ایفا می‌کنند. باکتری‌های محرک رشد با سازوکارهایی از قبیل سنتز ACC دآمیناز، کاهش جذب Na^+ به

واسطه تولید پلی‌ساکارید خارج سلولی(EPS)، تولید برخی مواد فرار که سبب تغییر در بیان ژن *HKT'1* می‌شوند (محصول این ژن ورود Na^+ به ریشه را کنترل می‌کند)، تولید هورمون‌ها و حفاظت‌کننده‌های اسمزی مانند پرولین، اکتویین، قند تری‌هالوز و گلایسین بتایین اثر منفی شوری را کاهش می‌دهند (Ahmadzadeh & Sharifi Tehrani, 2021).

سویه باکتریایی *B. velezenss* UTB96 (GenBank accession number CP036527) از خاک اطراف ریشه درختان پسته در غربالگری گسترده جامعه باکتریایی پروبیوتیک گیاهی در کرمان، ایران جداسازی شده است (Afsharmanesh *et al.*, 2016). از بین هزاران سویه جدا شده، UTB96 بالاترین فعالیت ضدقارچی را در برابر *Aspergillus flavus* داشت. به همین ترتیب، سویه UTB96 توانست آفلاتوکسین تولید شده توسط *Aspergillus flavus* در مغز پسته را تجزیه کند (Bagheri *et al.*, 2018). این باکتری گرم مثبت و میله‌ای شکل قادر است شرایط نامساعد نظیر: دمای بالا، حضور مواد سمی و شیمیایی، خشکی و ... را به واسطه تولید یک اندو سپور داخلی که مقاومت بالایی در برابر شرایط نامساعد محیطی دارد؛ به مدت طولانی تحمل کرده و با مساعد شدن شرایط، مجدداً رشد کند. حدود ۴ تا ۵ درصد از ژنوم این باکتری مختص تولید آنتی‌بیوتیک و ترکیبات فرار میکروبی با ساختارها و ویژگی های متفاوت است (Afsharmanesh *et al.*, 2016). تولید گروه‌های مختلفی از لیپوپپتیدهای حلقوی موجب برتری سویه‌های باسیلوس تولیدکننده آن‌ها در جایگاه‌های اکولوژیکی متنوع می‌شود. لیپوپپتیدهای عمده تولیدی توسط جنس باسیلوس شامل: سورفکتین با خاصیت حشره‌کشی و کاهش کشش‌سطحی و ایتورین و فنجایسین با خاصیت قارچ ایستایی است (Keshavarzi *et al.*, 2018).

این تحقیق با هدف بررسی اثر تنش شوری بر رفتار و بیماری‌زایی قارچ FOL، کنترل بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری با استفاده از باکتری UTB96 در شرایط آزمایشگاه و گلخانه انجام شد.

روش‌شناسی پژوهش

تهیه میکروارگانیسم‌ها

تهیه میکروارگانیسم‌های مورد استفاده

باکتری *Bacillus velezensis* UTB96 از کلکسیون باکتری‌های آنتاگونیست آزمایشگاه کنترل بیولوژیک، بخش بیماری-شناسی گیاهی گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران دریافت شد. قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* از موسسه تحقیقات علوم باغبانی_پژوهشکده سبزی و صیفی تهیه شد.

بررسی تاثیر تنش شوری بر خصوصیات رشدی قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*

ابتدا به منظور تعیین غلظت نمک مورد استفاده در آزمایش‌های پژوهش حاظر که در ادامه به آن‌ها اشاره خواهد شد، اثر ۴ غلظت صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ میلی‌مول نمک (NaCl) بر جوانه‌زنی و رشد گیاه گوجه‌فرنگی مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت با توجه به نتایج حاصل و آنالیزهای آماری، فقط غلظت ۷۵ میلی‌مول انتخاب و تمامی آزمایش ها بر اساس این غلظت انجام گرفت. در ادامه اثر غلظت۷۵ میلی مول نمک بر خصوصیات قارچ از جمله رشد شعاع کلونی قارچ، تعداد ماکرو و میکروکنیدی‌های قارچ، وزن تر و خشک میسلیوم‌های قارچ مورد بررسی قرار گرفت. آزمون‌ها براساس طرح کاملاً تصادفی و در چهار تکرار انجام شد.

1. high-affinity K+ transporter1

بررسی تاثیر تنش‌شوری بر رشد شعاع کلونی قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*

محیط کشت PDA به همراه غلظت ۷۵ میلی‌مول نمک (NaCl) تهیه شد. سپس، ۵ میلی‌متر قرص میسلیوم قارچی فعال، کشت ۱۰ روزه در وسط تشتک پتری قرار داده شد، تشتک‌های پتری در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند، ۷ روز بعد، شعاع کلونی قارچ اندازه‌گیری شد.

بررسی تاثیر تنش‌شوری بر رشد میسلیوم قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*

۱۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت PDB به همراه غلظت ۷۵ میلی‌مول نمک تهیه شده و به ارلن‌مایر ۲۰۰ میلی‌لیتری انتقال یافت. سپس، یک قطعه ۵ میلی متری از میسلیوم قارچ به محتویات فوق اضافه شده و درون شیکر انکوباتور در دمای ۲±۲۸ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ روز نگهداری شد. پس از گذشت این زمان میسلیوم قارچ به وسیله کاغذ صافی خشک برداشت شده و وزن آن اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک، میسلیوم‌ها برای ۲ روز در آون در دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند و سپس وزن آن‌ها اندازه گرفته شد.

بررسی تاثیر تنش‌شوری بر هاگ‌های قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*

۵ میلی‌متر از میسلیوم‌های ۷ روزه قارچ که در محیط کشت‌های حاوی غلظت ۷۵ میلی‌مول نمک کشت شده، به همراه ۲ میلی‌لیتر آب مقطر به درون ویال منتقل شده و پس از ورتکس شدن، به منظور رها شدن هاگ‌های قارچ، یک قطره از سوسپانسیون هاگ روی لام هماسیتومتر قرار داده شد و در زیر میکروسکوپ نوری هاگ‌های قارچ شمارش شدند (Maharshi *et al.*, 2021).

کنترل زیستی پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری در شرایط آزمایشگاه

آزمون کشت نقطه‌ای بین باکتری آنتاگونیست *B. velezensis* UTB96 و قارچ بیمارگر *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* تحت تنش شوری

این آزمون بر اساس روش (Vero *et al*., 2009) و در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. بدین منظور محیط کشت NA-PDA با نسبت یک به یک تهیه شد و در تیمار مربوط به تنش شوری میزان ۷۵ میلی‌مول نمک نیز به محیط مذکور اضافه شد. پس از انعقاد محیط، چهار نقطه در چهار طرف تشتک پتری و با فاصله یک سانتی‌متری از لبه‌ها با استفاده از ماژیک رسم شد. در سه نقطه از تشتک پتری، ۵ میکرولیتر باکتری کشت داده شده در محیط LB با جمعیت 10^8 CFU/ml با استفاده از سمپلر سترون کشت داده شد. در تیمار شاهد، از آب‌مقطر سترون به جای باکتری به همان میزان استفاده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، پرگنه قارچ به قطر ۵ میلی‌متر در وسط تشتک پتری قرار داده شد. پس از آن به مدت ۷ روز و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوبه شد. در انتها، قطر پرگنه قارچ اندازه‌گیری و درصد بازدارندگی طبق فرمول زیر محاسبه شد؛

درصد بازدارندگی =[(C-F)/C]×100

در این رابطه، C قطر پرگنه قارچ در تشتک پتری شاهد و F قطر پرگنه قارچ در تشتک پتری تیمار است.

کنترل زیستی پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری در شرایط گلخانه

برای بررسی اثر آنتاگونیستی باکتری موردنظر در شرایط گلخانه از روش مایه‌زنی ریشه نشای گوجه‌فرنگی رقم ارلی اوربانا[1] وای با سوسپانسیون باکتری و قارچ عامل بیماری استفاده شد. بدین منظور سوسپانسیون باکتری با جمعیت 10^8 CFU/ml

1Early Urbana Y

سوسپانسیون قارچ با جمعیت 10^6 هاگ در میلی‌لیتر تهیه شد. ریشه نشای گوجه‌فرنگی (مرحله ۳ تا ۴ برگی)، ابتدا به مدت ۳ دقیقه در سوسپانسیون باکتری و سپس در سوسپانسیون قارچ فرو برده شد، پس از آن نشاءها کاشته شد و هر دو روز یکبار با غلظت ۷۵ میلی‌مول نمک آبیاری شدند. در تیمار کنترل، آبیاری با آب فاقد نمک صورت گرفت و علائم بیماری پایش شد (Nirmaladevi *et al.*, 2016).

این آزمون براساس فاکتوریل و برپایه طرح کاملا تصادفی و در چهار تکرار انجام شد. برای تعیین شدت بیماری‌زایی از مقیاس ۱تا ۶ استفاده شد؛ ۱= گیاه سالم، ۲= زرد شدن ۲ برگ، ۳= زرد شدن ۳ برگ، ۴= پژمردگی بدون زردی برگ‌ها، ۵= پژمردگی همراه با زردی برگ‌ها، ۶= مرگ گیاهچه (Tokeshi and Galli., 1966) و در انتها شاخص بیماری (DI) طبق فرمول زیر محاسبه شد (Kashinro *et al.*, 2002).

$$DI= [(ni \times si)/(N \times S)]\times 100$$

در این معادله، ni تعداد گیاهان در هر تیمار، si شدت بیماری در هر تیمار طبق مقیاس، N تعداد کل گیاهان، S بالاترین شدت بیماری مطابق مقیاس مورداستفاده است.

یافته‌های پژوهش

بررسی تاثیر تنش شوری بر خصوصیات رشدی قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر تنش شوری بر خصوصیات رشدی قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* در سطح احتمال یک درصد معنادار است (جدول ۱). وزن تر و خشک میسلیوم و تعداد هاگ‌های قارچ در غلظت ۷۵ میلی‌مول در مقایسه با شاهد افزایش یافت. اما تنش شوری روی رشد شعاع کلونی قارچ عامل بیماری تاثیری نداشت (شکل۱).

جدول ۱. تجزیه واریانس تاثیر تنش شوری بر خصوصیات رشدی قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*

منابع تغییر	درجه آزادی	وزن تر میسلیوم	وزن خشک میسلیوم	شعاع کلونی	تعداد هاگ
تیمار	۱	۰/۰۲۲**	۰/۰۱۲**	۰	۱۱۲/۵**
خطا	۶	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰	۲/۵

**، * و ns: به ترتیب بیانگر معناداری در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم معناداری است.

آزمون کشت متقابل باکتری آنتاگونیست *B. velezensis* UTB96 و قارچ بیمارگر *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* تحت تنش شوری

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد، اثر شوری بر توانایی بازدارندگی باکتری آنتاگونیست بر علیه قارچ عامل بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی در سطح احتمال یک درصد معنادار است (جدول ۲). تحت تنش شوری، میزان بازدارندگی ۲۴ درصد کاهش یافت (شکل ۲).

جدول۲. تجزیه واریانس آزمون کشت متقابل باکتری آنتاگونیست *B. velezensis* UTB96 و قارچ بیمارگر *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* تحت تنش شوری

منابع تغییر	درجه آزادی	درصد بازدارندگی
تیمار	۱	۷۳/۸۶**
خطا	۴	۱۰/۲۴

**، * و ns: به ترتیب بیانگر معناداری در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم معناداری است.

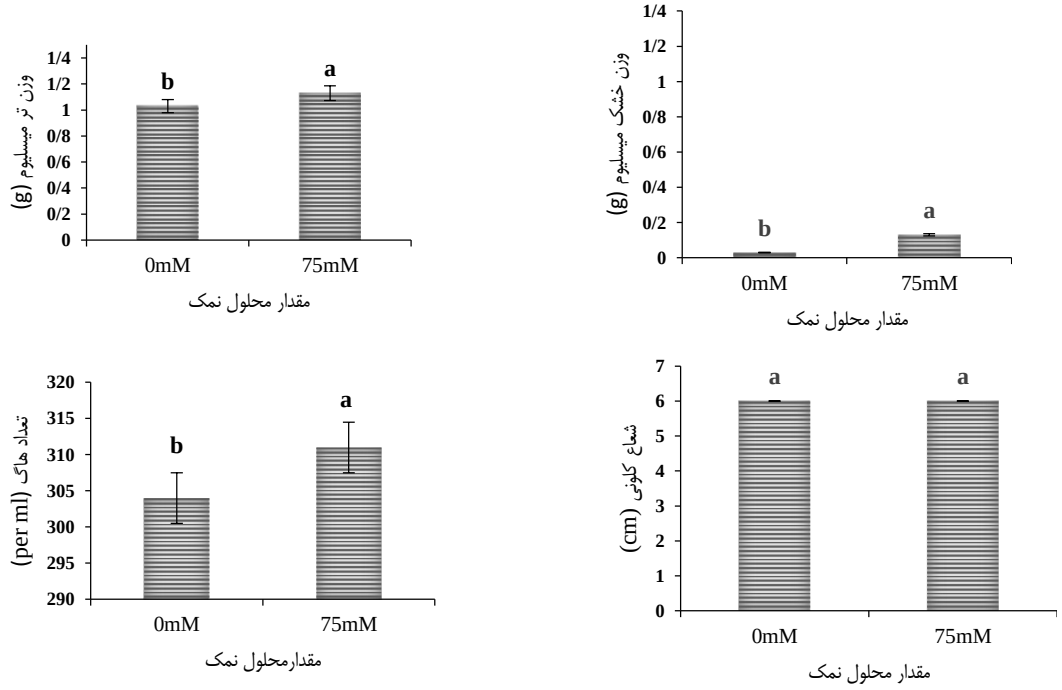
کنترل زیستی بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری در شرایط گلخانه

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد اثر باکتری *B. vlezensis* UTB96 بر کنترل بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری در شرایط گلخانه در سطح احتمال یک درصد معنادار است (جدول ۳). در شرایط شوری میزان بیماری‌زایی ۱۲ درصد در مقایسه با شرایط بدون شوری افزایش یافت. میزان بیماری‌زایی در گیاهان تیمار شده با باکتری در مقایسه با شاهد ۴۸ و ۶۸ درصد به ترتیب در هر دو شرایط شوری و بدون شوری کاهش یافت (شکل ۳).

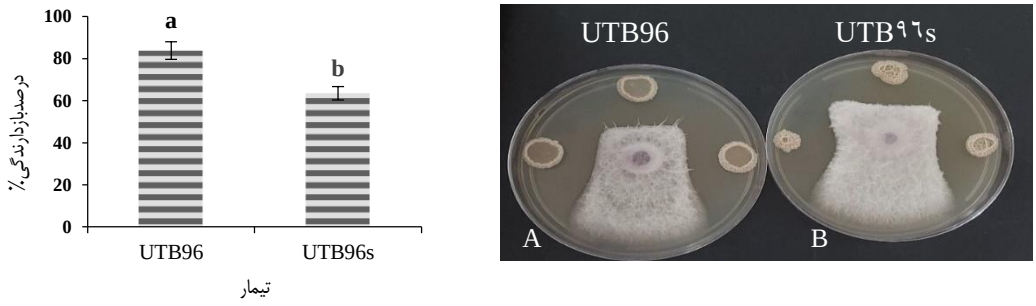
جدول ۳. تجزیه واریانس کنترل زیستی پژمردگی فوزاریومی گوجه فرنگی تحت تنش شوری در شرایط گلخانه

منابع تغییر	درجه آزادی	درصد بیماریی‌زایی
شوری	۱	۵۳/۱۶**
باکتری	۱	۱۸/۳۳**
شوری*باکتری	۱	۷/۸۴**
خطا	۶	۱/۹۴

**، * و ns: به ترتیب بیانگر معناداری در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم معناداری است.

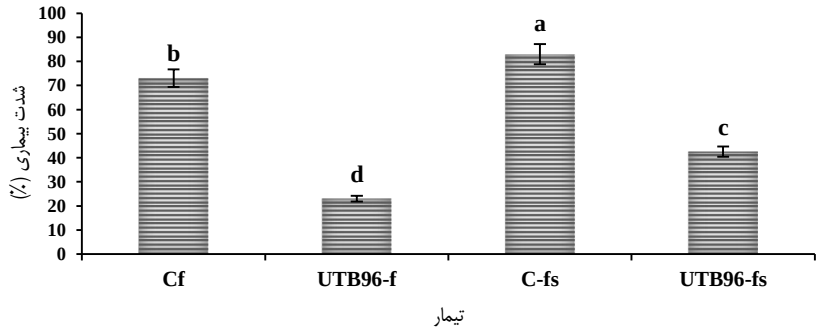


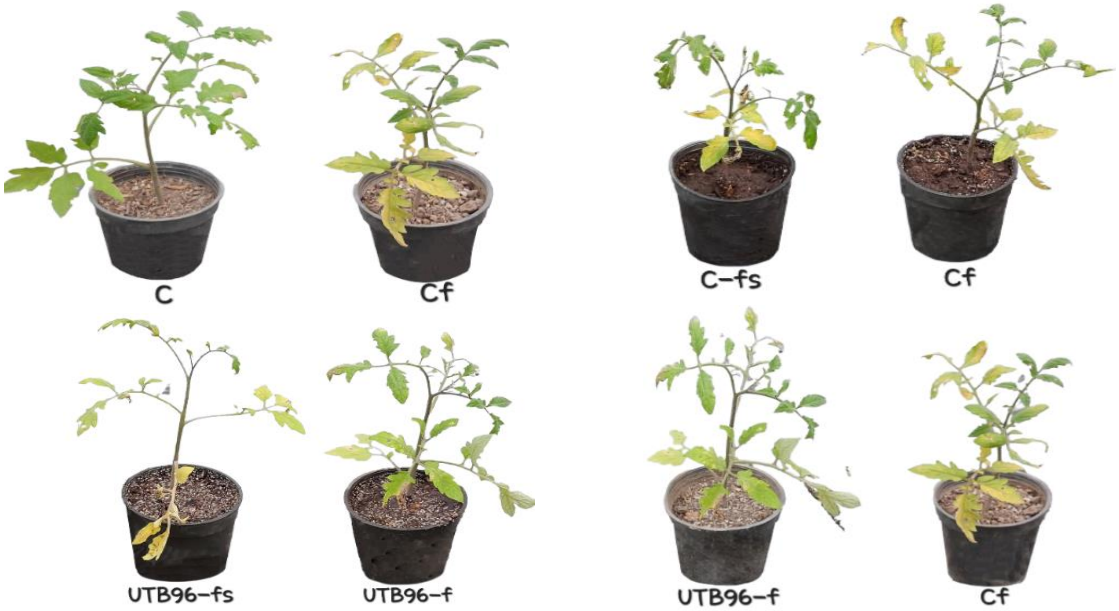
شکل ۱. تاثیر تنش شوری بر وزن تر و خشک میسلیوم، تعداد هاگ و شعاع کلونی قارچ *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*



شکل ۲. آزمون کشت متقابل باکتری آنتاگونیست *B. velezensis* UTB96 و قارچ بیمارگر *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*

A : غلظت صفر میلی‌مول نمک، B: غلظت ۷۵ میلی‌مول نمک





شکل ۳. کنترل زیستی بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری در شرایط گلخانه، Cf: گیاه آلوده به قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی، UTB96-f: گیاه مایه‌زنی شده با UTB96 به همراه آلودگی به قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی، C-fs: گیاه آلوده به قارچ عامل پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی در شرایط شوری، UTB96-fs: گیاه مایه‌زنی شده با UTB96-f در شرایط شوری

بحث

تنش‌های زیستی و غیر زیستی یکی از مهم‌ترین عوامل محدوده کننده رشد و عملکرد گیاهان هستند. در این میان، تنش شوری یکی از مخرب ترین تنش‌های غیرزیستی است که هم از طریق مستقیم باعث کاهش توسعه و عملکرد گیاهان می‌شود و هم با اثرگذاری مثبت بر رفتار و زنده‌مانی بیمارگرهای خاکزاد باعث افزایش حساسیت گیاهان به بیمارگرها و افزایش شدت بیماری و کاهش رشد آن‌ها می‌شود (Karlidag *et al.*, 2010; Santos *et al.*, 2022). با این وجود، استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک گیاهی می‌تواند به عنوان راه حلی کاربردی در جهت حفاظت از گیاهان دربرابر تنش‌های زیستی و غیر زیستی باشد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد، تنش شوری اثر مثبت بر هاگ‌زایی و زیست‌توده قارچ FOL داشته است. دیگر پژوهشگران نیز گزارشی مشابه مبنی بر افزایش زیست‌توده، هاگ‌زایی و جوانه‌زنی هاگ‌های قارچ FOL تحت تنش شوری داشته‌اند (Maharshi *et al.*, 2021). به نظر می‌رسد که هاگ‌زایی در شرایط شوری یک پدیده رایج در میان گونه‌های قارچ *Fusarium* spp. است (Mejda *et al.*, 2009). علاوه بر این، دو مکانیسم اولیه برای استقامت میکروب‌ها در برابرغلظت‌های بالای نمک‌های محلول پیشنهاد شده که عبارتند از، اثر اسموتیک و اثر یونی. در واقع میکروارگانیسم‌ها با انباشت اسمولیت‌های آلی (پرولین، گلایسین بتایین) و اسمولیت‌های غیرآلی (کاتیون پتاسیم) خود را با تنش شوری سازگار می‌کنند (Sagot *et al.*, 2010). با این وجود، تجمع اسمولیت‌ها نیازمند انرژی زیادی است که باعث کاهش فعالیت و رشد می‌شود (Wichern *et al.*, 2006). افزایش زیست‌توده قارچی در غلظت ۷۵ میلی‌مول نمک، تجمع انتخابی یون‌های محلول (مانند Na^+, Cl^-) ضروری برای متابولیسم یون‌هایی مانند NH_4^+ را از طریق ممانعت از افزایش فشار اسمزی نشان می‌دهد. بنابراین، زنده‌مانی و بیماری‌زایی بیمارگرهای خاکزادی همچون FOL در شرایط تنش شوری، می‌تواند به عنوان عاملی مهم در افزایش شدت بیماری‌زایی در محصولاتی همچون گوجه‌فرنگی محسوب شود.

پژوهش‌های انجام شده حاکی از این است که حساسیت گیاهان به بیماری‌های خاکزاد در شرایط تنش شوری به طور معناداری افزایش می‌یابد. در مقایسه با سایر تنش‌های غیرزیستی، تنش شوری در تمام مراحل رشدی گیاهان وجود دارد، پس شانس بیشتری برای مواجهه با بیمارگرهای خاکزاد در طول فصل زراعی دارد (Triky *et al*,. 2005, Otlewska *et al.*, 2020).

در مطالعه حاضر، در شرایط تنش شوری، شدت بیماری‌زایی در گیاهان آلوده به میزان ۱۲درصد افزایش یافت. نتایج تحقیقات پژوهشگران دیگر نیز نشان داده که تنش شوری باعث افزایش شدت بیماری‌زایی در بیماری پوسیدگی فوزاریومی پنبه، پوسیدگی فوزاریومی طوقه و ریشه گوجه‌فرنگی و بیماری زوال گیاهچه‌های لوبیا شده‌است (You *et al.*, 2011). نتایج تحقیقی دیگر نشان داده است که شوری خاک به رشد میسلیوم‌ها و هاگ‌زایی *F. oxysporoum* f. sp. *cepa* کمک می‌کند و باعث تشدید بیماری در گیاه پیاز می‌شود (Shoaib *et al.*, 2018). در نتیجه، محافظت از گیاهان در برابر این گونه تنش‌های ترکیبی، شوری و بیماری، نیازمند روشی موثر و کاربردی است.

اثر بخشی *Bacillus* spp. برای کنترل پژمردگی فوزاریومی در چندین پژوهش گزارش شده است. به عنوان مثال، نتایج پژوهشی نشان داده که تیمار گیاهان با *B. cereus* باعث ارتقا رشد و کنترل بیماری پژمردگی فوزاریومی در مقایسه با گیاهان شاهد شد (Ramirez *et al.*, 2022). نتایج این پژوهش نیز نشان داد که شدت بیماری در گیاهان تیمار شده با UTB96 در مقایسه با گیاهان شاهد در هر دو شرایط شوری و بدون شوری کاهش یافت. این نتایج با یافته‌های واگنر و همکاران (۲۰۲۱) مطابقت دارد. نامبردگان بیان کردند که سویه‌های متحمل به شوری جنس باسیلوس می‌توانند در شرایط تنش شوری، رشد گیاه گوجه‌فرنگی را افزایش داده و بیماری پژمردگی فوزاریومی را کنترل کنند. نتایج تحقیقی دیگر نشان داد که گونه‌های *Pseudomonas chlororaphis* TSAU13 و *P. etremorietalis* توانستند تحت تنش شوری، رشد گیاه را تحریک کرده و بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه گوجه‌فرنگی ناشی از *Fusarium solani* را کنترل کنند. بنابر نتایج

به‌دست آمده، شوری فاقد اثر منفی روی فعالیت این گونه‌ها بوده و آن‌ها توانایی کلنیزه ریشه گیاه را تحت تنش شوری داشتند (Egamberdieva *et al.*, 2017).

باکتری‌های محرک رشد از طریق سازوکارهای مستقیم و غیرمستقیم می‌توانند از گیاهان در برابر بیمارگرهای خاکزاد در شرایط تنش شوری محافظت کنند. نتایج مطالعات قبلی نشان داده که، باکتری *B. velezensis* UTB96 با تولید ترکیباتی از قبیل آنزیم ACC دآمیناز باعث افزایش تحمل گیاهان در برابر تنش شوری می‌شود و اثرات مخرب ناشی از آن را کاهش می‌دهد (Ahmadzadeh, unpublished data). پس به طریق غیرمستقیم باعث افزایش مقاومت گیاهان دربرابر بیمارگرهای خاکزاد می‌شود. از طرفی دیگر، این باکتری به واسطه تولید ترکیبات ضدقارچی باعث تضعیف بیمارگر می‌شود، پس به طریق مستقیم از گیاهان محافظت می‌کند در نتیجه استفاده از باکتری‌های محرک رشد مثل سویه UTB96، می‌تواند روشی کاربردی و دوستدار محیط زیست برای افزایش رشد و عملکرد گیاهان در شرایط نامساعد محیطی مختلف باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که تنش شوری اثری مثبت بر رفتار و بیماری‌زایی قارچ FOL دارد و باکتری UTB96 می‌تواند سلامت گیاهان گوجه‌فرنگی را در برابر بیماری پژمردگی فوزاریومی گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری بهبود بخشد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از ریاست محترم شرکت فن‌آوری زیستی طبیعت‌گرا جناب آقای دکتر همایون مرادی و همکاران ایشان و همچنین بنیاد ملی علم ایران که ما را در انجام این پژوهش یاری‌کردند (طرح پسادکتری با شماره ۹۹۰۰۴۶۲۴)، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

REFERENCES

Afsharmanesh, H., Ahmadzadeh, M. (2016). The iturin-like lipopeptide as key factor in antagonism of *Bacillus subtilis* UTB96 toward Aspergillus flavus R5. *Biol Control Pests Plant Dis*, 5(1), 79 –95. https://doi.org/10.22059/JBIOC.2016.58619.

Ahmadzadeh, M., & Sharifi Tehrani. (2021). *Plant Probiotic Bacteria A new Approach in Biofarming and Organic Farming*. University of Tehran. Press. (In Persion)

Bagheri, N., Ahmadzadeh, M., Ghasemi, S., Vahidinasab, M., Ghoreshi, SS. (2018). *Bacillus amyloliquefaciens* UTB96, a superior plant probiotic and aflatoxin-degrading bacterium. *J BioControl Plant Prot*. 6, 1–17. https://doi.org/10.22092/BCPP.2018.119371.

Besri, M. (1980). Influence du potentiel osmotique de l'eau sur la croissance de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* et de *Verticillium dahliae*. *Phytopathologische Zeitschrift* 99, 1-8.

Cuevas, J., Daliakopoulos, IN., Del Moral, F., Hueso, JJ., Tsanis, IK. (2019). A review of soil-improving cropping systems for soil salinization. *Agronomy*, 9(6), 295-317. https://doi.org/10.3390/agronomy9060295.

De Sio, F., Rapacciuolo, M., De Giorgi, A., Sandei, L., Giuliano, B., Tallarita, A., et al. (2021). Industrial processing affects product yield and quality of diced tomato. *Agriculture*, 11(3), 230-244. https://doi.org/10.3390/agriculture11030230.

Egamberdieva, D., Davrano, k., Wirth, S., Hashem, A., & Elsayed fathi, A. (2017). Impact of soil salinity on the plant-growth-promoting and biological control abilities of root-associated bacteria. *Saudia Journal of Biological Sicence*, 24(7), 1601-1608. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.07.004.

Giuffrida F, Scuderi D, Giurato R, Leonardi C. (2013). Physiological response of broccoli and cauliflower as affected by NaCl s alinity. *Acta Hortic* 1005, 435–441.

https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.1005.52.

Ilangumaran, G. & Smith, DL. (2017). Plant growth promoting rhizobacteria in amelioration of salinity stress: a systems biology perspective. *Front Plant Sci*, 23(8), 1768. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01768.

Karlidage, H., Esitke, A., Ertan, Y., Donnez, M., & Turan, M. (2010). Effects of plant growth promoting bacteria on yield, growth, leaf water content, membrane permeability, and ionic composition of strawberry under saline conditions. *Plant Nutrition*, 34(1), 34-45. https://doi.org/10.1080/01904167.2011.531357.

Koleska, I., Hasanagic, D., Maksimovic, I., Bosancic, B. & Kukavica, B. (2017) The role of antioxidative metabolism of tomato leaves in long-term salt-stress response. *J Plant Nutr Soil Sci*, 180, 105–112. https://doi.org/10.1002/jpln.201600439.

Keshavarzi, S., Ahmadzadeh, M., Mirzaei, S., Behboudi, K., Bandehpour, M. (2018). Enhancing surfactant production in Bacillus subtilis UTB96 by fermentation optimization. *J BioControl Plant Prot.* 5, 13–26. https://doi.org/10.22092/BCPP.2018.117885.

Kumar, A., & Verma, JP. (2018). Does plant-microbe interaction confer stress tolerance in plants: a review. *Microbiol. Res*, 207, 41–52. https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.11.004.

Machado RM, Serralheiro RP. (2017). Soil salinity: Effect on vegetable crop growth. Management practices to prevent and mitigate soil salinization. *Horticulture*, 3(2), 30. https://doi.org/10.3390/horticulturae3020030.

Maharshi, A., Rashid, M., Teli, B., Yadav, SK., Singh, DP., & Sarma, BK. (2021). Salt stress alters pathogenic behavior of *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* and contributes to severity in chickpea wilt incidence. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 113, 101-602. https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2021.101602.

Mejda, D.R., Ahmed, S., Hedia, B.Q., Mohsen, M., & Bouzid, N. (2009). Salinity Effects on Fusarium Wilt Severity and Tomato Growth. Dynamic Soil, Dynamic Plant ©2009 Global Science Book

Nirmaladevi, D., Venkataramana, M., Srivastava, R.K., Uppalapati, S.R., Gupta, V.K., Yli, M.T., & Chandra, N.S. **(**2016). Molecular phylogeny, pathogenicity and toxigenicity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Scientific Reports,* 6(1), 423-436. https://doi.org/10.1038/srep21367.

Orozco-Mosqueda, M.C., Dun, J., DiBernardo, M., Zetter, E., Campos-Garcia, J., Glick, B.R. & Santoyo, G. (2019). The production of ACC Deaminase and trehalose by the plant growth promoting bacterium *Pseudomonas* sp. UW4 synergistically protect tomato plants against salt stress. *Front Microbiol*, 10:1392 1398. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01392.

Otlewska, A., Migliore, M., Dybka-Stepien, K, et al. (2020). When salt meddles between plant, soil, and microorganisms. *Front. Plant Sci*, 11, 1429- 1435. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.553087

Ozgonen, H., Bicici, M and Erkılıc, A. (1999). The effect of salicylic acid and endomycorrhizal fungus *Glomus etunicatum* on plant development of tomatoes and Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Turk. J. Agri. Fores*, 25(1), 25-29

Pandey, P., Irulappan, V., Bagavathiannan, MV., & Senthil-Kumar, M (2017). Impact of combined abiotic and biotic stresses on plant growth and avenues for crop improvement by exploiting physiomorphological traits. *Front Plant Sci*, 18(8), 537. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00537.

Parida, AK., & Das, AB. (2005). Salt tolerance and salinity effect on plants: a review. *Ecotoxicol Environ Saf*, 60(3), 324–349. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.06.010.

Ramirez, V., Martinez, J., Rocio, M., Cataneda, D., Munive, J., Baenz, A. (2022). *Bacillus cereus* MH778713 elicits tomato plant protection against *Fusarium oxysporum*. *Applied Microbiology*, 132(1),470-482. https://doi.org/10.1111/jam.15179.

Rasmussen, SL., & Stanghellini, ME. (1988). Effect of salinity stress on development of Pythium blight in *Agrostis palustris. Phytopathology*, 78, 1495-1497. https://doi.org/10.1094/Phyto-78-1495.

Reis, A., Costa, H., Boiteux, L.S. and Lopes, C.A. (2005). First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 on tomato in Brazil. *Fitopatol Brasileira*, 30(4), 426–428. https://doi.org/10.1590/S010041582005000400017.

Sagot, B., Gaysinski, M., Mehiri, M., Guigonis, JM., Le Rudulier, D., & Alloing, G. (2010). Osmotically induced synthesis of the dipeptide N-acetylglutaminylglutamine amide is mediated by a new pathway conserved among bacteria. *Proc Natl Acad Sci*, 107(28), 12652-12657. https://doi.org/10.1073/pnas.1003063107.

Sanogo, S. (2004). Response of chile pepper to *Phytophthora capsici* in relation to soil salinity. *Plant Disease*, 88(2), 205-209. https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.2.205.

Santos, T., Rabis, AF., Souza, S., Budzinski, G., & Domingues, S. (2022). Physiological responses to drought, salinity, and heat stress in plants: A Review. *Stresses*, 2(1), 113-135. https://doi.org/10.3390/stresses2010009

Shoaib, A., Merja, S., N, Khan, K., Javaid, M. (2018). Influence of salinity and *Fusarium oxysporum* as the stress factors on morpho-physiological and yield attributes in onion. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 24(6), 1093-1101. https://doi.org/10.1007/s12298-018-0570-z.

Triky-Dotan, S., Yermiyahu, U., Katan, J. et al. (2005). Development of crown and root rot disease of tomato under irrigation with saline water. *Phytopathology*, 95(12), 1444-1438 https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-1438.

Triky-Dotan, S., Yermiyahu, U., Katan, J., & Gamliel, A. (2005). Development of crown and root rot disease of tomato under irrigation with saline water. *Phytopathology*, 95(12), 1438-1444. https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-1438.

Turco, E., Naldini, D., & Ragazzi, A. (2002). Disease incidence and vessel anatomy in cotton plants infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* under salinity stress. *Zeitschrift fuer Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 109, 15-24.

Vero, D., Garmendia, G., Gonzalez, M.B., Garat, M.F., & Winsniewski, M. (2009). Aureobosidium pullulans as a biocontrol agent of postharvest pathogens of apples in Uruguay. *Biocontrol Science and Technology*, 9(10), 1033-1049. https://doi.org/10.1080/09583150903277738.

Vorasoot, N., Songsri, P., Akkasaeng, C., Jogloy, S., Patanothai A. (2003). Effect of water stress on yield and agronomic characters of peanut. *Songklanakarin J Sci Technol* 25(3), 283–288

Wagner, B., Embrapa, M.A., & Rod, S.P. (2021). Multifaceted intervention of *Bacillus* spp. against salinity stress and Fusarium wilt in tomato. *Journal of Applied Microbiology CNPq*, 131(5), 2387-2401. https://doi.org/10.1111/jam.15095.

Wichern, J., Wichern, F., Joergensen, RG. (2006). Impact of salinity on soil microbial communities and the decomposition of maize in acidic soils. *Geoderma*. 137(1-2), 100–108. http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2006.08.001

You, MP., Colmer, TD., Barbetti, MJ. (2011). Salinity drives host reaction in *Phaseolus vulgaris* (common bean) to *Macrophomina phaseolina*. Funct Plant Biol, 38(12), 984–992. https://doi.org/10.1071/FP11137.