# مطالعه فرمولاسیون‌های مختلف باکتری‌های آنتاگونیست گیاهی در کنترل بیماری گموز پسته

**محدثه حسنی سعدی[۱]، روح اله صابری ریسه[۱*]**

تاریخ ارسال: ۱۴۰۳/۰۳/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۱۴

**چکیده**

پسته با نام علمی *Pistacia vera* L. (Anacardiaceae) به عنوان پنجمین محصول تجاری جهان و دومین محصول صادراتی غیرنفتی ایران نقش مهمی در اقتصاد جهانی دارد. بیماری گموز پسته از مهمترین بیماری‌های پسته می‌باشد که هرساله تعدادی از درختان پسته را نابود کرده و سبب کاهش قابل توجه محصول می‌گردد. گرچه تیمار شیمیایی توسط قارچکش به‌عنوان یکی از راه‌های کنترل این بیماری محسوب می‌گردد اما استفاده از سموم شیمیایی ضمن آلودگی محصول، اثرات جبران‌ناپذیری بر محیط زیست دارد. کاربرد باکتری‌های آنتاگونیست گیاهی رویکرد قابل توجهی است که می‌تواند به صورت جایگزین با سموم شیمیایی جهت کنترل گموز پسته بکاربرده شود. باوجود این قابلیت، چالش‌های خاصی از جمله آسیب‌پذیر بودن آنها نسبت به عوامل زیست محیطی و ماندگاری پایین آنها، کاربردشان را با محدودیت مواجه کرده است. برای غلبه بر این محدودیت‌ها، فرمولاسیون باکتری‌ها براساس روش نوین کپسوله کردن می‌تواند ضمن افزایش کارایی و ماندگاری باکتری‌ها، سبب رهایش آهسته‌تر آنها گردد. به دلیل اهمیت بیماری گموز پسته، مقاله حاضر به بررسی کاربرد باکتری‌های آنتاگونیست گیاهی به‌عنوان یک روش مدیریتی پایدار، جهت کنترل این بیماری می‌پردازد. همچنین با توجه به اهمیت فرمولاسیون در کارایی عوامل زیستی، فرمولاسیون های مختلف از جمله روش کپسوله کردن و مزیت‌های آن به‌عنوان روشی کاربردی جهت فرمولاسیون باکتری‌های آنتاگونیست گیاهی بحث شده است.

**واژه‌های کلیدی:** پوسیدگی طوقه و ریشه پسته، مهار کننده زیستی، فرمولاسیون، کپسوله کردن.

[۱] گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان.

[*]نویسنده مسئول: r.saberi@vru.ac.ir

**مقدمه**

پسته با نام علمی *Pistacia vera* L. (Anacardiaceae) به‌عنوان پنجمین محصول تجاری مهم در جهان بوده که به ترتیب کشورهای آمریکا، ایران، ترکیه، چین و سوریه بیشترین تولید کنندگان پسته جهان می باشند (FAO, 2022). به لحاظ صادرات غیرنفتی ایران رتبه دوم را به خود اختصاص داده است (FAO, 2022). ایران با بیش از ۶۵۰ هزار هکتار سطح زیر کشت پسته، تنها حدود ۲۴۱ هزار تن تولید را در سال ۲۰۲۲ به خود اختصاص داده است. بنابراین به نظر می‌رسد میزان این تولید در واحد سطح پایین باشد (FAO, 2022). مجموعه‌ای از فاکتورهای زیستی (آفات و بیماری‌های گیاهی) (Mohammadi *et al.*, 2015; Moradi Pour *et al.*, 2022b) و غیر زیستی (تنش گرمایی، خشکی و سرمازدگی) (Afsah Hejri *et al.*, 2022; Hassanisaadi *et al.*, 2024; Moradi *et al.*, 2018) می‌توانند در کاهش تولید سالانه محصول پسته دخیل باشند. از بیماری‌های مهم درختان پسته، پوسیدگی طوقه و ریشه پسته، نماتد ریشه گرهی و بیماری سرخشکیدگی شاخه و تنه مهم‌ترین بیماری‌های درختان پسته هستند (Mohammadi *et al.*, 2015; Moradi Pour *et al.*, 2022b). پوسیدگی طوقه و ریشه که به انگومک یا گموز نیز شناخته می‌شود از مهمترین بیماری‌های پسته بوده که هرساله سبب از بین رفتن شماری از درختان پسته و کاهش محصول می‌گردد (Moradi Pour *et al.*, 2022b). چندین گونه از شبه قارچ *Phytophthora* به نام‌های *P. megasperma*، *P. drechsleri*، *P. parsiana*، *P. citrophthora*، *P. nicotianae* و *P. pistaciae* به عنوان عامل این بیماری از مناطق پسته‌کاری گزارش شده‌اند (Banihashemi & Moradi, 2004; MacDonald *et al.*, 1992; Mirsoleimani & Mostowfizadeh-Ghalamfarsa, 2013; Mostowfizadeh-Ghalamfarsa *et al.*, 2008). در حال حاضر کنترل شیمیایی توسط قارچ‌کش‌ها به‌عنوان یکی از راه‌های کنترل این بیماری است که ضمن آلوده نمودن آب و خاک، در صادرات جهانی این محصول مشکل ایجاد کرده است (Okey- Onyesolu *et al.*, 2021). از این جهت به کارگیری روش‌هایی نوین که بتوانند به‌عنوان جایگزین با سموم شیمیایی به کاربرده شوند و دارای کاربردی راحت و گسترده باشند امری حائز اهمیت است. مقوله استفاده از باکتری های آنتاگونیست به عنوان عوامل زیستی رویکرد قابل توجهی است که در صورت کاربرد این باکتری‌ها در فرمولاسیون مناسب می تواند منجر به مهار موثر شبه قارچ عامل گموز پسته شوند (Moradi Pour *et al.*, 2022b). علیرغم این پتانسیل، استفاده کاربردی از این باکتری‌ها با چالش های خاصی از جمله آسیب پذیر بودن آنها نسبت به عوامل محیطی همچون نور، اشعه UV، رطوبت، انتشار سریع و عدم ماندگاری آن‌ها مواجه است. برای غلبه بر این محدودیت‌ها، فرمولاسیون باکتری‌ها امری ضروری است. از آنجاییکه فرمولاسیون‌های رایج و مرسوم عموما با محدودیت‌هایی از جمله انحلال‌پذیری کم، ماندگاری پایین

مواد فعال و عدم تحویل هدفمند اجزاء فعال روبرو هستند، ارائه روش کپسوله کردن ایده‌ای جدید است که با غلبه بر این محدودیت‌ها می‌تواند سبب افزایش کارایی، ماندگاری و تحویل هدفمند عوامل مهارکننده زیستی گردد. شکل ۱ کپسوله کردن باکتری‌های آنتاگونیست گیاهی و کاربرد آنها را به عنوان فرمولاسیونی نوین در برابر بیمارگرهای طوقه و ریشه را نشان می دهد.

**شکل ۱- کپسوله کردن باکتری های آنتاگونیست گیاهی توسط ماکروملکول های زیستی و به کارگیری باکتری های کپسوله شده در برابر بیمارگر طوقه و ریشه.**

این مطالعه به بررسی توانایی باکتری‌های آنتاگونیست گیاهی در کنترل بیماری گموز پسته می‌پردازد. همچنین، مزیت‌های کپسوله کردن به عنوان یک روش کاربردی برای انتقال باکتری‌های آنتاگونیست گیاهی نسبت به فرمولاسیون‌های معمول را مورد ارزیابی قرار می دهد.

## نقش باکتری های آنتاگونیست گیاهی در مدیریت بیماری گموز پسته

مهار زیستی بیمارگرهای خاکزاد پیچیدگی‌های مخصوص به خود را دارد، چرا که عوامل زیستی کاربردی بایستی در تعامل با سایر میکروارگانیسم های موجود در ریزوسفر قرار گیرند. در این رابطه میکروارگانیسم های بومی ریزوسفر ایده‌آل‌ترین گزینه برای کنترل زیستی بیمارگرهای

خاکزاد بوده (Hassanisaadi *et al.*, 2021) و خط دفاعی اول را برای ریشه در برابر حملات بیمارگرهای گیاهی فراهم می‌کنند (Weller, 1988). آنها می‌توانند به سطح ریشه چسبیده و با گیاهان روابط همزیستی برقرار نمایید (Hassanisaadi *et al.*, 2021). در حال حاضر طیف وسیعی از گونه های باکتریایی متعلق به جنس‌های *Pseudomonas*، *Bacillus*، *Streptomyces*، *Agrobacterium*، *Alcaligenes*، *Arthrobacter*، *Enterobacter*، *Serratia*، *Erwinia*، *Rhizobium* و *Xanthomonas* به دلیل پتانسیل خود در محافظت از گیاهان در برابر بیمارگرهای گیاهی شناسایی شده‌اند (Collinge *et al.*, 2022; Moradi Pour *et al.*, 2022a). این باکتری‌ها در رابطه متقابل با گیاه و همچنین رابطه مستقیم با عوامل بیماریزا، تاثیر مستقیم و غیر مستقیمی در کنترل عوامل بیماری زای گیاهی دارند (Hassanisaadi, 2024; Tariq *et al.*, 2020). چنین پتانسیل‌هایی می‌تواند با مکانیسم‌های مستقیم و غیر مستقیم مرتبط باشد. مکانیسم‌های مستقیم بر پایه آزادسازی آنتی‌اکسیدان‌ها، لیپوپپتیدها، آنتی بیوتیک‌ها، هورمون‌ها، بیوسورفکتانت‌ها، ترکیبات فرار و آنزیم‌های تخریب کننده دیواره سلولی می‌باشند (Hirozawa *et al.*, 2023; Kaari *et al.*, 2022; Smits *et al.*, 2019). تولید متابولیت‌های مختلف ضد میکروبی مانند باکتریوسین‌ها، پیرولنیترین، پیولوتئورین، دی آلکیل رزورسینول‌ها و فلوروگلوسینول‌ها که توسط برخی باکتری‌ها تولید می‌گردد، مستقیماً در کنترل بیولوژیکی پاتوژن‌های گیاهی نقش دارند (Höfte, 2021). باکتری *Pseudomonas protegens* از طریق تولید یک نوع بیوسورفکتانت لیپوپپتیدی به‌نام orfamide بیمارگر *Phytophthora* را کنترل می‌کند (Ma *et al.*, 2016). علاوه بر این سودوموناس‌ها از طریق تولید آنتی‌بیوتیک pyoluteorin، سیانید هیدروژن و همچنین تولید لیپوپپتیدهای حلقوی سبب نشت سلولی و در نهایت مرگ پاتوژن می‌شوند (Flury *et al.*, 2017). گزارش شده‌است باسیلوس‌ها از طریق تولید باکتریوسین‌هایی مانند Subtilin A، Subtilin B، Amysin، Thuricin، Amylocyclicin و Amylolysin از تشکیل هاگ یا سنتز دیواره سلولی بیمارگر ممانعت کرده و سبب سرکوب بقاء بیمارگر می‌گردند (Lajis, 2020). همچنین اثبات شده است جدایه‌های آنتاگونسیت باکتری‌های *Bacillus* و *Streptomyces* از طریق تولید آنزیم‌های برون سلولی متعددی مانند پروتئاز، لیپاز، گلوکاناز، سلولاز نقش کلیدی در کنترل بیولوژیک پاتوژن‌های گیاهی دارند.

مکانیسم‌های غیرمستقیم عوامل بیوکنترل گیاهی شامل کلنیزاسیون طوقه و ریشه، رقابت برای غذا و فضا و القای سیستم دفاعی میزبان می‌باشد (Lahlali *et al.*, 2022). در پژوهشی Arkhipov و همکاران تاثیر دو باکتری بیوکنترل *Pseudomonas azotoformans* و *Bacillus velezensis* را در مهار بیمارگر *Phytophthora capsici* مورد بررسی قرار دادند. آنها اظهار داشتند توانایی آنتاگونیستی این دو باکتری به

ترکیبی از مکانیسم‌های مستقیم و القای مقاومت سیستمیک القایی(ISR) مرتبط است (Arkhipov *et al.*, 2023).

گونه‌های آنتاگونیست باکتری‌های جنس *Pseudomonas* که به طور گسترده در زیست بوم‌ها یافت می‌شوند، از جمله باکتری‌های مهم آنتاگونیست گیاهی هستند که پتانسیل آنها در بازدارندگی از بیمارگرهای گیاهی مختلف و ارتقاء سلامت گیاهان بسیار گزارش شده است (Dimkić *et al.*, 2022; Mehmood *et al.*, 2023). برای مثال حاج عبداللهی و همکاران فعالیت ضد قارچیVUPF5 *Pseudomonas fluorescence* و *Pseudomonas* T-17 *fluorescence* را در برابر عامل پوسیدگی طوقه و ریشه پسته با نام *P. parsiana* به اثبات رسانیدند. نتایج این پژوهش نشان داد *Pseudomonas fluorescence* VUPF5 در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه ای با کاهش ۷۰ درصدی میزان مرگ و میر، قوی ترین اثر را داشت (Hajabdollahi *et al.*, 2020). در پژوهش‌هایی دیگر توانایی *Pseudomonas* ها در کنترل بیماری گموز پسته نیز اثبات شده است. به عنوان مثال در پژوهشی تاثیر دو باکتری *P. fluorescens* و *Bacillus subtilis* بر افزایش رشد و کنترل بیمارگر عامل گموز پسته ناشی از *Phytophthora drechsleri* مورد بررسی قرار گرفت به طوریکه هر دو سویه باکتری به میزان قابل توجهی توانایی مهار بیمارگر *P. drechsleri* را دارا بودند؛ همچنین به دنبال مایه‌زنی دانهال های پسته با این دو گونه باکتری، افزایش فعالیت آنزیم های گایاکول پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و فنیل آلانین آمونیالیاز و همچنین افزایش سطح ترکیبات فنلی گزارش شد (Fathi *et al.*, 2019). نشان داده شده است سطح بیان ژن‌های تنظیم‌کننده رشد از جمله ژن‌های مرتبط با زنجیره تنفسی و فتوسنتز و یا ژن های مرتبط با دفاع از جمله ژن *DSC1* پس از قرار گرفتن دانهال پسته در معرض *P. fluorescens* افزایش یافت (Hajabdollahi *et al.*, 2021).

علاوه بر جنس *Pseudomonas*، گونه‌های باکتریایی دیگری با توانایی مهار زیستی بیمارگرهای گیاهی مانند *B. velezensis*، *B. subtilis* در پژوهش های متعددی گزارش شده‌اند (Moradi Pour *et al.*, 2022a; Moradi Pour *et al.*, 2022b). یکی از ویژگی‌های کلیدی گونه‌های جنس *Bacillus* توانایی آنها در تشکیل اندوسپور است که آنها را در برابر شرایط محیطی سخت محافظت می‌کند. همچنین این باکتری‌ها با تولید ترکیبات ضد میکروبی قادر به تحریک واکنش‌های دفاعی گیاه هستند (Ghadamgahi *et al.*, 2022; Hassanisaadi, 2024) به‌طوریکه نشان داده است *Bacillus siamensis* قابلیت مهار بیمارگرهای *Phytophthora sojae* و *Fusarium oxysporum* را به طور موثری دارا می باشد (He *et al.*, 2023). پژوهش‌های انجام شده پتانسیل گونه‌های آنتاگونیست این جنس را در مهار بیمارگر عامل گموز پسته نیز به اثبات رسانیده است به صورتی که مرادی پور و همکاران توانایی مهار بیمارگر *P. drechsleri* را توسط باکتری‌های کپسوله شده *B. velezensis* را نشان دادند (Moradi Pour *et al.*, 2022b). همچنین توانایی مهارکنندگی باکتری‌های *B.*

*Burkholderia cepacia* ،*Bacillus pumilus* ،*subtilis* و *Enterobacter kobei* در برابر گونه *P. nicotianae* مشخص کرد که این باکتری ها فعالیت آنتاگونیستی بسیار قوی در برابر این بیمارگر دارا می‌باشند (Malvi *et al.*, 2023). در بررسی دیگر توانایی تولید سیدروفور، ایندول استیک اسید (IAA) و آنزیم‌های سلولاز، لیپاز، پروتئاز توسط دو جدایه از باکتری *B. subtilis* (VRU1 و BS-VRU) ثابت گردید و افزایش پارامترهای رشدی مشاهده شد. همچنین نتایج نشان داد که هر دو جدایه باکتریایی میزان تلفات نهال پسته را کاهش دادند که بیشترین و کمترین تاثیر به ترتیب مربوط به VRU1 و BS-VRU بود (Moradi Pour *et al.*, 2019).

باکتری‌های جنس *Streptomyces* دسته ای دیگر از باکتری‌ها هستند که در روابط سه گانه گیاه، عامل مهار زیستی و بیمارگر نقش مهمی دارند به طوریکه این باکتری‌ها به‌عنوان بزرگ‌ترین تولیدکنندگان زیستی آنتی‌بیوتیک شناخته می‌شوند(Donald *et al.*, 2022) . متابولیت‌های تولید شده توسط این دسته از باکتری ها شامل متابولیت‌هایی با فعالیت‌های ضد قارچی، حشره‌کشی، ضد باکتریایی و متابولیت های افزایش دهنده رشد گیاه هستند (Amelia-Yap *et al.*, 2022; Hassanisaadi *et al.*, 2021; Jesmina *et al.*, 2023). از طرف دیگر توانایی این جنس در تحمل به شوری خاک، مزیت رقابتی ویژه‌ای به آنها جهت زنده‌مانی در خاک‌های شور از جمله مناطق پسته‌کاری اعطا می‌کند (Hassanisaadi *et al.*, 2021). مطالعات نشان داده است دو گونه *Streptomyces rochei* و *Streptomyces vinaceusdrappus* فعالیت ضداامیستی قابل توجهی در برابر بیمارگر *Phytophthora capsica* دارا می‌باشند (Abbasi *et al.*, 2020). این باکتری‌ها پتاسیل خود را در خصوص کنترل بیماری پوسیدگی فیتوفتوریایی پسته نیز نشان داده‌اند به طوریکه در پژوهشی نشان داده شد جدایه‌های استرپتومایسس با تولید آنتی بیوتیک‌هایی با خاصیت ضد اامیستی توانایی مقابله با بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه دانهال‌های پسته با عامل *P. drechseleri* را در شرایط گلخانه‌ای را دارا می‌باشند (Shahidi Bonjar *et al.*, 2006).

**فرمولاسیون باکتری های آنتاگونیست**

به بیان ساده فرمولاسیون میکروارگانیسم‌های مفید از جمله باکتری‌های آنتاگونیست که اصطلاحا به آن فرمولاسیون زیستی (Bioformulation) اطلاق می‌گردد، به کارگیری روش‌هایی ایمن و اقتصادی جهت تبدیل یک یا چند میکروارگانیسم مفید و یا متابولیت‌های آنها به فرمی است که به راحتی قابل ذخیره، حمل و نقل و کاربرد باشند (Ijaz *et al.*, 2019). در واقع این فرمول‌های زیستی شامل یک جزء فعال و یک ماده حامل می‌باشند که گاهی به این مواد یک ماده افزودنی از جمله سورفکتانت ها نیز اضافه می گردد. یک ماده حامل، جزئی غیرفعال و غیرزنده می‌باشد که به جزء فعال کمک می‌کند تا به صورت ایمن به مجاورت گیاه رسانده شده و برای تقویت رشد گیاه یا از بین بردن آفات یا بیماری مورد نظر کارآمد باشد. همچنین مواد حامل ضمن فراهم کردن

شرایطی مساعد برای جزء فعال، ماندگاری آن را در فرمولاسیون افزایش می‌دهند. مواد مختلفی از جمله مواد بی اثر مانند پلیمرها، ورمیکولیت، پرلیت و یا مایعات را می‌توان به عنوان حامل استفاده کرد (Bashan *et al.*, 2014; Saberi Riseh *et al.*, 2022). افزودنی‌هایی مانند صمغ (Moradi Pour *et al.*, 2024)، کربوکسی متیل سلولز (Roohallah Saberi Riseh *et al.*, 2023) و نشاسته (Roohallah Saberi Riseh *et al.*, 2023a) نیز برای افزایش ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و تغذیه‌ای فرمولاسیون‌های زیستی اضافه می‌شوند. امروزه رایج‌ترین فرمولاسیون‌های موجود به دو دسته کلی مایع و جامد تقسیم می‌گردند که از نظر ماهیت با یکدیگر متفاوت هستند. جدول ۱ برخی باکتری‌های آنتاگونیست فرموله شده تجاری را نمایش می‌دهد.

**جدول ۱- برخی باکتری‌های آنتاگونیست فرموله شده توسط فرمولاسیون‌های مرسوم**

| نام تجاری محصول | نام علمی باکتری | نوع فرمولاسیون | منبع |
|---|---|---|---|
| Cerall | *Pseudomonas chlororaphis* | امولسیون مایع غلیظ | (Bejarano & Puopolo, 2020) |
| Serenade | *Bacillus subtilis* QST 713 | پودر وتابل، امولسیون مایع غلیظ | (Schisler *et al.*, 2004) |
| Serenade ASO | *Bacillus amyloliquefaciens* | پودر وتابل | (Bejarano & Puopolo, 2020) |
| Yield shield | *Bacillus pumillus* GB34 | پودر وتابل | (Schisler *et al.*, 2004) |
| Proradix | *Pseudomonas* sp. | پودر وتابل | (Bejarano & Puopolo, 2020) |
| Mycostop | *Streptomyces griseoviridis* | پودر وتابل | (Bejarano & Puopolo, 2020) |
| Kodiak | *Bacillus subtilis* GB03 | پودر وتابل | (Schisler *et al.*, 2004) |
| Subtilex | *Bacillus subtilis* MBI600 | پودر وتابل | (Schisler *et al.*, 2004) |
| Actinovate | *Streptomyces lydicus* | پودر وتابل | (Ngamcharungchit *et al.*, 2023) |

گرچه فرمولاسیون‌های موجود کنونی به‌عنوان رایج‌ترین فرمولاسیون‌ها برای فرموله‌کردن عوامل زیستی گیاهی به‌کار برده می‌شوند، اما این فرمولاسیون‌ها دارای محدودیت‌ها و معایبی می‌باشند که کارآمدی آنتاگونیست‌های گیاهی را کاهش می‌دهند، به عنوان مثال این فرمولاسیون‌ها فاقد مزیت رهایش تدریجی و کنترل شده آنتاگونیست‌ها هستند. عدم وجود این قابلیت سبب دسترسی یکباره گیاه به حجم بالایی از آنتاگونیست موردنظر، هدررفت آن و نتیجه کاهش کارایی آن برای استفاده طولانی مدت می‌گردد. علاوه بر این، این فرمولاسیون‌ها به گونه‌ای طراحی نشده‌اند که به صورت هوشمند بتوانند رهاسازی ماده موثر یا عامل زیستی را در نقطه هدف بیماری یا آفت انجام دهند؛ از این رو در این فرمولاسیون‌ها بسیاری از میکروارگانیسم‌های غیرهدف نیز می‌توانند متاثر از جزء فعال گردند. فرمولاسیون‌هایی که جهت فرموله‌کردن آنتاگونیست‌های گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرند بایستی ویژگی محافظت کنندگی از جزء فعال را در

برابر عوامل محیطی مانند pH، دمای هوا، تغییرات رطوبت و اشعه ماوراء بنفش را دارا بوده باشند؛ درحالیکه که بسیاری از این فرمولاسیون‌ها این قابلیت را دارا نمی باشند (Jiménez-Villeda *et al.*, 2023). از سوی دیگر، در فرمولاسیون‌های رایج، جمعیت و ماندگاری آنتاگونیست‌ها به مرور زمان کاهش می‌یابد. این ویژگی‌ها کارایی و اثربخشی آنتاگونیست‌ها را به میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد. لذا به کارگیری باکتری‌های مهارکننده زیستی با استفاده از فرمولاسیون‌های نوین از جمله کپسوله کردن علاوه بر اینکه اثربخشی آنها را افزایش می‌دهد، در طولانی مدت سبب کاهش هزینه‌های مدیریت آفات و بیماری‌ها می‌گردد. این فرمولاسیون‌ها بگونه‌ای طراحی می‌شوند که عوامل زیستی می‌توانند بسیاری از موقعیت‌های نامطلوب مانند خشکی و دمای بالا را تحمل کرده، بقای خود را حفظ کرده و سبب افزایش رشد گیاه در دوره‌های زمانی طولانی شوند (Moradi Pour *et al.*, 2024). به عبارتی کپسوله کردن باکتری‌ها ضمن حفاظت باکتری‌ها از شرایط نامساعد خاک و فیلوسفر، رهایش کنترل شده‌ای در مکان و زمان مناسب برای آنها فراهم می‌کند (Saberi Riseh *et al.*, 2022).

در ادامه در خصوص مهمترین فرمولاسیون‌های بکاربرده شده جهت کنترل گموز صحبت شده است.

**فرمولاسیون‌های جامد**

این دسته از فرمولاسیون‌ها شامل گرد (Dust)، پودر وتابل (Wettable powders)، پودرهای محلول (Water-soluble powders) و گرانول‌های قابل پخش در آب (Water-dispersible granules)، گرانول (Granule) هستند (Ijaz *et al.*, 2019). مهمترین فرمولاسیون‌های بکاربرده شده جهت کنترل گموز گرد، پودر وتابل، گرانول‌های قابل پخش در آب و گرانول‌ها می‌باشند که در جدول ۲ مشخصات کلی آن‌ها، اجزای اصلی تشکیل دهنده، کاربردها، مزایا و معایب هریک نشان داده شده است.

**پودر وتابل (WP)**

پودرهای وتابل حاوی حداقل ۵۰ درصد یا بیشتر از جزء فعال زیستی می‌باشند که با یک عامل مرطوب کننده و یک تثبیت کننده مخلوط هستند. حامل‌ها برای پودرهای وتابل بسیار مهم هستند. موادی با خواص جذب قوی مانند سیلیس، بنتونیت و دیاتومیت ممکن است به عنوان حامل انتخاب شوند (Samada & Tambunan, 2020). پودرهای وتابل قبل از کاربرد علیه پاتوژن هدف از جمله بیمارگر ریشه و طوقه با آب مخلوط شده و بصورت آبیاری به ریشه و طوقه رسانده می‌شوند. پودر وتابل در آب به صورت معلق درآمده و چندان پایدار نیست، از این رو جهت حصول محلولی یکدست و عدم ته نشینی نیاز به هم زدن پیوسته دارد (Kumar & Aloke, 2020).

**گرد (D)**

گرد یا پودر از قدیمی ترین فرمولاسیون‌ها بوده که حاوی درصد کمی جزء فعال می‌باشد (حدود ۱۰ درصد). در این نوع فرمولاسیون که از دیرباز مورد استفاده قرار می‌گیرد

از موادی از جمله پودر تالک به‌عنوان حامل استفاده می‌گردد. در این فرمولاسیون اندازه ذرات بسیار ریز و به حالت گرد می‌باشد، از این رو استفاده از این فرمولاسیون مشکل جابجایی و کاربرد با گرد و غبار را به همراه دارد. اما از آنجایی که این فرمول‌ها قبل از استفاده در مزرعه با آب رقیق نمی‌شوند اندازه ذرات این فرمول‌ها در مقایسه با فرمول‌های پودر وتابل بیشتر است (Kumar & Aloke, 2020).

**گرانول های قابل پخش در آب (WDGs)**

گرانول‌های قابل پخش در آب پودرهای مرطوب‌شونده‌ای هستند که در ساختارهای گرانول مانند یکنواخت انباشته شده‌اند. این نوع فرمولاسیون با قابلیت حل در آب، به راحتی با آب مخلوط و به صورت سوسپانسیون رقیق اعمال می‌شوند. این امر سبب می شود تا نسبت به پودرهای وتابل پخش یکنواخت‌تری داشته باشند (Kumar & Aloke, 2020).

**گرانول (G)**

گرانول ها شامل یک ماده حامل، یک ماده چسبنده و یک جزء فعال هستند. عموما در گرانول‌ها نسبت اجزای فعال به سایر اجزاء بین ۵ تا ۲۰ درصد است (Brar *et al.*, 2006). بسته به حجم ذرات، ماکروگرانول‌ها (با اندازه گیری ذرات تا ۱۰۰۰ میکرومتر) و میکروگرانول (تا ۶۰۰ میکرومتر) دسته بندی می‌گردند. بیشترین کاربرد گرانول‌ها در خاک است. گرانول ها در خاک شکسته شده و جزء فعال آنها آزاد می‌گردد (Ijaz *et al.*, 2019).

**فرمولاسیون های مایع**

فرمول‌های مایع برای باکتری‌های آنتاگونیست ممکن است انواع مختلفی داشته باشند، اگرچه اساساً از کشت‌های میکروبی یا سوسپانسیون‌های میکروبی ساده در آب، روغن‌های معدنی یا آلی، پلیمرها یا ترکیبی از آنها تشکیل شده‌اند. به طور کلی سوسپانسیون مایع شامل اجزائی از جمله جزء فعال میکروبی، مایع حامل (روغن یا آب)، سورفکتانت می‌باشد. مهمترین نوع فرمولاسیون‌های مایع که در خصوص باکتری‌های آنتاگونیست بکار میرود شامل مایعات محلول (Soluble Liquids) و امولسیون مایع غلیظ (Emulsifiable Concentrate) می‌باشد (Brar *et al.*, 2006; Cush, 2006; Kumar & Aloke, 2020). از این میان، برخی سموم تجاری مورد استفاده جهت کنترل گموز به صورت "مایعات محلول" فرموله کردن شده‌اند. در جدول ۲ مشخصات این فرمولاسیون ، اجزای اصلی تشکیل دهنده، کاربرد، مزایا و معایب آن نشان داده شده است.

**مایعات محلول (SL)**

در این نوع فرمولاسیون که شامل ساده‌ترین نوع فرمولاسیون مایع است، جز فعال مایع در یک حامل مایع که معمولاً آب یا یک حلال سازگار با آب است رقیق می‌گردد و مخلوط به غلظت مورد نظر تنظیم می‌شود. از آنجاییکه در این نوع فرمولاسیون جزء فعال بایستی در آب محلول باشد، استفاده از این فرمولاسیون برای جزء های فعال مختلف با محدودیت مواجه می‌شود (Cush, 2006).

**جدول ۲- مهم ترین فرمولاسیون های کاربردی جهت کنترل گموز پسته**

| نوع فرمولاسیون | نام فرمولاسیون | مشخصات کلی | اجزاء اصلی تشکیل دهنده | هدف مورد استفاده | مزایا | معایب | منبع |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| جامد | پودر وتابل (WP) | WP قبل از پاشش در مخزنی در آب پراکنده و معلق می‌شود. این فرمولاسیون چندان پایدار نبوده و جهت عدم ته نشینی نیاز به هم زدن پیوسته دارد. | -جزء فعال زیستی (حداقل ۵۰٪)<br>-تثبیت‌کننده (کربوکسی متیل سلولز)<br>-مرطوب‌کننده (سدیم لیگنوسولفونات، سدیم لوریل سولفات)<br>-حامل (سیلیس، بنتونیت و دیاتومیت) | -محلول پاشی<br>-تیمار بذر<br>-تیمار خاک از طریق آبیاری | -انبارداری و حمل آسان | -احتمال استنشاق توسط کاربر در اختلاط<br>-نیاز به همزدن مداوم<br>-رسوبات روی گیاه باقی مانده و قابل مشاهده است<br>-نیازمند تجهیزات برای توزیع | (Kumar & Aloke, 2020; Samada & Tambunan, 2020) |
| جامد | گرد (D) | قدیمی‌ترین نوع فرمولاسیون، گردها قبل از استفاده با آب رقیق نمی‌شوند. | -جزء فعال زیستی (حداکثر ۱۰٪)<br>-حامل (پودر تالک، خاک رس، گچ) | -تیمارخاک<br>-تیمار بذر | -قابل استفاده در مناطقی که رطوبت عامل محدود کننده است<br>-عدم نیاز به تجهیزات خاص جهت استفاده | -احتمال زیاد رانش<br>-چسبندگی پایین به سطوح<br>-احتمال استنشاق توسط کاربر<br>-کلوخه شدن در تماس با رطوبت | (Kumar & Aloke, 2020) |
| جامد | گرانول های قابل پخش در آب (WDGs) | پس از مخلوط شدن با آب پوشش گرانول باز شده و جزء فعال خارج می‌شود | -جزء فعال زیستی(حدودا ۹۰٪)<br>-عامل مرطوب کننده<br>-حامل | -محلول پاشی<br>-تیمار خاک از طریق آبیاری | -انبارداری و حمل آسان<br>- عدم نیاز به هم زدن مداوم | -احتمال استنشاق توسط کاربر<br>-نیازمند تجهیزات برای توزیع | (Knowles, 2008; Kumar & Aloke, 2020) |
| جامد | گرانول (G) | ماکروگرانول‌ها (اندازه ذرات تا ۱۰۰۰ میکرومتر)، میکروگرانول‌ها(اندازه ذرات تا ۶۰۰ میکرومتر)، گرانول‌ها در خاک شکسته و جزء فعال آزاد می گردد | -جزء فعال زیستی (۵-۲۰٪)<br>-ماده چسبنده<br>-حامل (سیلیکا، کائولین، تالک، کربنات کلسیم) | -تیمار خاک | -انبارداری و حمل آسان | -عدم قابلیت اختلاط با آب<br>-عدم قابلیت اسپری روی گیاه | (Brar *et al.*, 2006; Ijaz *et al.*, 2019; Knowles, 2008) |
| مایع | مایعات محلول (SL) | ساده ترین نوع فرمولاسیون مایع، فرمولاسیون به صورت غلظت بالایی از مواد فعال در حلال بر پایه آب حل است | -جزء فعال زیستی<br>-حلال (آب/ حلال سازگار با آب) | -محلول پاشی | -سهولت کاربرد و ترکیب<br>-توزیع یکنواخت | -هزینه تولید و خرید بالا<br>-در خصوص عوامل زیستی کودهای مایع قابلیت نگهداری برای طولانی مدت را ندارند<br>-نیازمند تجهیزات برای توزیع کود | (Cush, 2006) |
| جامد/مایع | کپسول | بسته به روش تهیه کپسول، می‌توانند در دسته فرمولاسیون های مایع یا فرمولاسیون های جامد قرار گیرند. این فرمولاسیون شامل محصور کردن جزء فعال زیستی در پوسته محافظتی است، ماتریکس‌های خاص در ترکیب با سایر ماتکریس‌ها از طریق رویکرد لایه به لایه یا چند لایه تشکیل می‌شوند | -جزء فعال زیستی (حداقل ۲۰٪)<br>حامل (پلی ساکاریدهایی از جمله آلژینات، کیتوزان، نشاسته، لیگنین، پکتین، صمغ و مشتقات سلولز)<br>-امولسیفایر (بسته به نوع روش بکاربرده شده جهت تهیه کپسول ها)<br>-حلال | -محلول پاشی<br>-تیمار خاک | -رهاسازی تدریجی جزء فعال زیستی<br>-افزایش ماندگاری و کارایی جزء فعال زیستی<br>-حفاظت از جزء فعال در برابر عوامل محیطی<br>-کاهش دز و تعداد دفعات مورد نیاز به کاربرد فرمولاسیون<br>-کاهش هزینه کاربرد<br>-رهاسازی هدفمند جزء فعال در نقطه هدف | برای فرمولاسیون نیاز به تجهیزات خاص است<br>-چنانچه نوع کود مایع باشد برای توزیع آن نیاز به تجهیزات است | (Moradi Pour *et al.*, 2024; Saberi Riseh *et al.*, 2022) |

**کپسوله کردن به‌عنوان روشی نوین در فرمولاسیون**

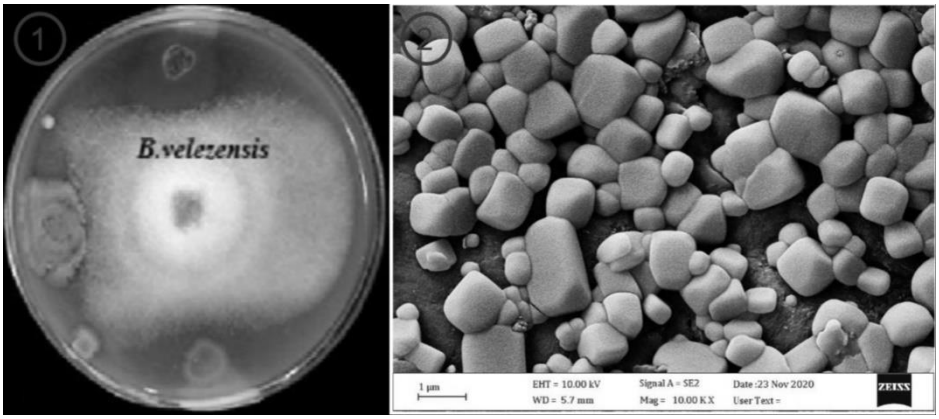
روش کپسوله کردن مستلزم محصور کردن عوامل مهار زیستی در یک ماتریکس یا پوسته محافظتی از جنس ماکروملکول‌هایی از جمله پلیمرها، لیپیدها و یا پروتئین‌ها است. در میان ماتریکس‌های مختلف، پلی ساکاریدهایی از جمله آلژینات، کیتوزان، نشاسته، لیگنین، پکتین، صمغ و سلولز، به تنهایی و یا همراه با مواد مختلف دیگر به‌عنوان رایج‌ترین ترکیبات جهت کپسوله کردن آنتاگونیست‌های گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Saberi Riseh *et al.*, 2022; Saberi Riseh *et al.*, 2023b). طی پروسه کپسوله کردن اتخاذ ماتریکس‌های خاص در ترکیب یک ماتریکس با سایر ماتکریس‌ها از طریق رویکرد لایه به لایه (Layer-by-Layer) یا چند لایه (Multiple layer) می‌تواند پایداری دیواره کپسول‌ها را تقویت کرده و محدودیت‌های مربوط به یک پلیمر را کاهش دهد (Saberi Riseh *et al.*, 2022). شکل ۵ کپسوله کردن به روش تک لایه و دو لایه را توسط برخی از انواع پلیمرهای زیستی نشان می‌دهد.

**شکل ۲- کپسوله کردن به روش تک لایه و لایه به لایه توسط برخی از متداول‌ترین پلیمرهای زیستی.**

اخیرا در حوزه کشاورزی مطالعات متعددی در رابطه با کپسوله کردن عوامل زیستی گیاهی انجام شده است. نتایج نشان داده است این روش نوآورانه به‌طور قابل‌توجهی به توسعه سیستم‌های تحویل هدفمند کمک کرده و امکان اثر بخشی عوامل مهارکننده زیستی را افزایش می‌دهند (Moradi Pour *et al.*, 2024; Moradi Pour *et al.*, 2022a). به‌عنوان مثال

مشاهده شده است کپسوله کردن باکتری *B. Velezensis* درون ماتریکسی از پلیمرهای آلژینات/ پروتئین آب پنیر/ صمغ بادام کوهی ماندگاری بالاتر، رهایش کنترل شده‌تر و کارایی بهتر باکتری را در برابر عامل بیماری پاخوره غلات (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*) فراهم می‌کند (Moradi Pour *et al.*, 2022a).

تاثیر کپسوله کردن باکتری‌های آنتاگونیست بر کنترل بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه پسته بررسی شد به طوریکه طی پژوهشی باکتری *Bacillus velezensis* از طریق ماتریکسی از جنس آلژینات و ژلاتین که توسط نانو ذرات سیلیس ($SiO_2$) و نانو لوله‌های کربنی غنی شده بودند، کپسوله شد. نتایج نشان داد روش کپسوله کردن به میزان قابل توجهی بر زنده‌مانی باکتری‌ها پس از یک سال و همچنین بر رهایش کنترل شده آنها طی ۵۰ روز تاثیر دارد و این باکتری‌ها توانستند بیمارگر *P. drechseleri* را به خوبی مهار کنند (Moradi Pour *et al.*, 2022b) (شکل ۶).




**شکل۳- ۱- تصویر میکروسکوپ الکترون روبشی از میکروکپسول‌های تهیه شده از آلژینات و ژلاتین ؛ ۲) مهار بیمارگر *Phytophthora drechsleri* توسط باکتری‌های فرموله‌شده *Bacillus velezensis* (Moradi Pour *et al.*, 2022b).**

## روش‌های کپسوله کردن باکتری‌های آنتاگونیست گیاهی

متداول‌ترین روش‌ها جهت کپسوله کردن باکتری‌های آنتاگونیست گیاهی شامل اکستروژن، خشک کردن پاششی و امولسیفیکیشن می‌باشد. در روش اکستروژن، مخلوطی از ماده زیست فعال و ماتریکس تحت شرایط معین از طریق یک نازل به درون یک محلول سخت‌کننده دیواره کپسول با فشار به بیرون رانده می‌شود. این روش به ویژه برای کپسوله کردن میکروارگانیسم‌های حساس به دمای بالا مورد استفاده قرار می‌گیرد (Fangmeier *et al.*, 2019). روش دوم فرآیندی است که در یک مرحله مخلوط مایع را به پودر خشک تبدیل می‌کند. در این فرآیند مواد حامل یا در واقع ماتریکس پس از مخلوط شدن با جزء فعال در یک محفظه خشک‌کن داغ اسپری شده و همانطور که قطرات با هوای گرم تماس پیدا می‌کنند، آب به سرعت از ریز کپسول ها تبخیر شده و پودری خشک حاصل می‌گردد (Mohammed *et al.*, 2020). روش

امولسیفیکیشن فرآیندی است که طی آن آنتاگونیستی که بایستی در فرآیند کپسوله کردن محصور گردد، در یک مایع غیر قابل اختلاط از جمله روغن از طریق همگن کردن آن با امولسیفایر پراکنده می‌شود. امولسیفایر یک سورفکتانت است که امولسیون‌ها را با کاهش کشش سطحی بین دو مایع غیر مشابه تثبیت می‌کند (Camelo-Silva *et al.*, 2022).

**مزیت باکتری‌های انکپسوله شده در مقایسه با باکتری‌های غیر فرموله‌شده**

فرمولاسیون عوامل آنتاگونیست گیاهی از طریق روش کپسوله کردن مزیت‌هایی را به باکتری‌های مهار زیستی ارائه می‌دهد که کاربرد آنها را نسبت به فرم های غیرفرموله‌شده ارجحیت می‌بخشد. علاوه بر اینکه عوامل مهار زیستی کپسوله‌شده نسبت به فرم غیر کپسوله شده دارای پایداری و ماندگاری بیشتری هستند، پوشش ماتریکس اطراف باکتری‌ها، آنها را از عوامل مخرب محیطی حفظ کرده و زنده مانی باکتری ها را افزایش می‌دهند (Moradi Pour *et al.*, 2022b; Šunjka & Mechora, 2022). کپسوله کردن همچنین با تحویل هدفمندتر مواد فعال به محل بیماری سبب کاهش تاثیر آنها بر نقاط غیر هدف می‌گردد (Singh & Paithankar, 2023). باکتری‌های کپسوله شده رهاسازی آرام تر و پیوسته‌تری داشته که این امر سبب تاثیر طولانی‌تر آنها و نیاز کمتر به کاربرد مکرر آنها می‌گردد (Pirzada *et al.*, 2020). از نگاه دیگر، کپسوله کردن سازگاری عوامل مهار زیستی را با سایر کودها و ترکیبات شیمیایی بیشتر می‌کند (Manchikanti, 2019). بنابراین به طور کلی، کپسوله کردن باکتری‌های آنتاگونیست گیاهی مزایای متعددی از نظر ماندگاری، رهاسازی کنترل‌شده، کاهش اثرات زیست‌محیطی، تحویل هدفمند و افزایش سازگاری ارائه می‌دهد. این مزایا باکتری‌های مهار زیستی انکپسوله شده را به میکروارگانیسم‌هایی ارزشمند در راستای شیوه های مدیریت کشاورزی پایدار بیماری‌های گیاهی تبدیل می‌کند.

**نتیجه‌گیری**

با توجه به اهمیت پسته در صادرات غیرنفتی کشور و کاهش بخشی از میزان تولید در اثر بیمارگرهای گیاهی از جمله بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه پسته با عامل *Phytophthora* spp.، لزوم استفاده از روش‌های سازگار با محیط زیست و نوین جهت کنترل این بیماری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. استفاده از باکتری‌های آنتاگونیست گیاهی از جمله این روش‌ها است که نمونه‌های اجرای موفق آن در کشاورزی به اثبات رسیده است. با توجه به شدت تنش‌های خشکی، شوری و گرما در باغات پسته، فرمولاسیون‌های رایج، جمعیت، ماندگاری و اثربخشی عوامل زیستی را به مرور زمان کاهش می‌دهند. از سوی دیگر، فرمولاسیون‌های رایج مزیت رهایش تدریجی و کنترل شده عوامل زیستی را ندارند. عدم وجود این قابلیت سبب دسترسی یکباره گیاه به حجم بالایی از آنتاگونیست‌ها و هدررفت‌شان شده، در نتیجه هزینه‌های استفاده از آنها را افزایش می‌دهد. از این رو، به کارگیری فرمولاسیونی نوین، کاربردی و مقرون

بصرفه که بتواند زنده‌مانی باکتری‌ها را در برابر تنش‌های مسئله ساز باغات پسته یعنی خشکی، شوری و گرما افزایش دهد و کارایی باکتری‌ها را به میزان مطلوبی نگه دارند امری حائز اهمیت است. کپسوله کردن ایده‌ای است که نیازهای فوق را برآورده کرده و می‌تواند جایگزین مناسبی برای فرمولاسیون‌های رایج موجود در بازار باشد. در این فرآیند از پلیمرهای مقرون به صرفه و دوستدار محیط زیست از جمله نشاسته، صمغ های گیاهی، ژلاتین و آلژینات استفاده می‌شود که این حسن بخشی از مقرون به صرفه بودن تولید این فرمولاسیون آن را توجیه می‌کند. از طرفی با توجه به مقرون به صرفه بودن و فراهم بودن امکانات لازم برای تولید این فرمولاسیون در کشورمان، این تکنولوژی این قابلیت را دارد که به عنوان روشی نوین جهت فرموله کردن عوامل زیستی و کودها در کارخانجات تولید کننده نهاده‌های کشاورزی بکاربرده شود و در آینده‌ای نزدیک فرمولاسیون تولیدی بتواند نقش مهمی در مهار زیستی بیماری‌های گیاهی ایفا کند.

**منابع**


1. Abbasi, S., Safaie, N., Sadeghi, A., & Shamsbakhsh, M. (2020). Tissue-specific synergistic bio-priming of pepper by two Streptomyces species against Phytophthora capsici. PloS one, 15(3), e0230531.
2. Afsah Hejri, J. S., Moradi, M., & Fani, S. R. (2022). Tolerance of Yeast Antagonists Isolated from Pistachios in Environmental Stresses. Pistachio and Health Journal, 5(1), 52-61.
3. Amelia-Yap, Z. H., Azman, A. S., AbuBakar, S., & Low, V. L. (2022). Streptomyces derivatives as an insecticide: Current perspectives ,challenges and future research needs for mosquito control. Acta Tropica, 229, 106381.
4. Arkhipov, A., Carvalhais, L. C., & Schenk, P. M. (2023). PGPR control Phytophthora capsici in tomato through induced systemic resistance, early hypersensitive response and direct antagonism in a cultivar-specific manner. European Journal of Plant Pathology, 167(4), 811-832.
5. Banihashemi, Z., & Moradi, M. (2004). The frequency of isolation of Phytophthora spp. from crown and root of pistachio nut tree and reaction of the crown and root to the causal agent. Iranian journal of Plant Pathology, 40, 57-75.
6. Bashan, Y., de-Bashan, L. E., Prabhu, S., & Hernandez, J.-P. (2014). Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013). Plant and soil, 378, 1-33.
7. Bejarano, A., & Puopolo, G. (2020). Bioformulation of microbial biocontrol agents for a sustainable agriculture. How research can stimulate the development of commercial biological control against plant diseases, 275-293.
8. Brar, S. K., Verma, M., Tyagi, R., & Valéro, J. (2006). Recent advances in downstream processing and formulations of Bacillus thuringiensis based biopesticides. Process biochemistry, 41(2), 323-342.
9. Camelo-Silva, C., Verruck, S., Ambrosi, A & ,.Di Luccio, M. (2022). Innovation and trends in probiotic microencapsulation by emulsification techniques. Food Engineering Reviews, 14(3), 462-490.
10. Collinge, D. B., Jensen, D. F., Rabiey, M., Sarrocco, S., Shaw, M. W., & Shaw, R. H. (2022). Biological control of plant diseases–What has been

achieved and what is the direction? Plant Pathology, 71(5), 1024-1047.

11. Cush, R. (2006). Back to basics: A review of pesticide formulation types. Golf Course Manag, 74(1), 143-145.
12. Dimkić, I., Janakiev, T., Petrović ,M., Degrassi, G., & Fira, D. (2022). Plant-associated Bacillus and Pseudomonas antimicrobial activities in plant disease suppression via biological control mechanisms-A review. Physiological and Molecular Plant Pathology, 117, 101754.
13. Donald, L., Pipite ,A., Subramani, R., Owen, J., Keyzers, R. A., & Taufa, T. (2022). Streptomyces: Still the biggest producer of new natural secondary metabolites, a current perspective. Microbiology Research, 13(3), 418-465.
14. Fangmeier, M., Lehn, D. N., Maciel, M. J., & Volken de Souza, C. F. (2019). Encapsulation of bioactive ingredients by extrusion with vibrating technology: advantages and challenges. Food and Bioprocess Technology, 12(9), 1472-1486.
15. FAO. (2022). The State of Food Security and Nutrition in the World 2022 :Countries by commodity. Retrieved from https://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity
16. Fathi, F., Saberi Riseh, R., & moradi, m. (2019). The Effects of Biocontrol Bacillus and Pseudomonas Strains on Plant Growth and Biochemical Defense echanisms in Pistachio Seedlings Inoculated with Phytophthora Drechsleri. Pistachio and Health Journal, 1(3), 15-26.
17. Flury, P., Vesga, P., Péchy-Tarr, M., Aellen, N., Dennert, F., Hofer, N., Kupferschmied, K. P., Kupferschmied, P., Metla, Z., & Ma, Z. (2017). Antimicrobial and insecticidal: cyclic lipopeptides and hydrogen cyanide produced by plant-beneficial Pseudomonas strains CHA0, CMR12a, and PCL1391 contribute to insect killing. Frontiers in Microbiology, 8, 100.
18. Ghadamgahi, F., Tarighi, S., Taheri, P ,.Saripella, G. V., Anzalone, A., Kalyandurg, P. B., Catara, V., Ortiz, R., & Vetukuri, R. R. (2022). Plant growth-promoting activity of Pseudomonas aeruginosa FG106 and its ability to act as a biocontrol agent against potato, tomato and taro pathogens. Biology, 11(1), 140.
19. Hajabdollahi, N., Saberi Riseh, R., Khodaygan, P., Moradi, M., & Moslemkhani, K. (2020). An Evaluation of Four Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Their Effects on Controlling Crown and Root Rot of Pistachios Caused by Phytophthora Parsiana. Pistachio and Health Journal, 3(2), 26-39.
20. Hajabdollahi, N., Saberi Riseh, R., Khodaygan, P., Moradi, M., & Moslemkhani, K. (2021). Differentially expressed genes in resistant and susceptible Pistacia vera L. Cultivars in response to Pseudomonas fluorescens and Phytophthora parsiana. Biocontrol Science and Technology, 31(5), 451-467.
21. Hassanisaadi, M. (2024). Surfactin as a multifaceted biometabolite for sustainable plant defense: a review. Journal of Plant Pathology, 1-17.
22. Hassanisaadi ,M., Kennedy, J. F., Rabiei, A., Riseh, R. S., & Taheri, A. (2024). Nature's coatings: Sodium alginate as a novel coating in safeguarding plants from frost damages. International Journal of Biological Macromolecules, 131203.
23. Hassanisaadi, M., Shahidi Bonjar, G. H., Hosseinipour, A., Abdolshahi, R., Ait Barka, E., &

Saadoun, I. (2021). Biological control of Pythium aphanidermatum, the causal agent of tomato root rot by two Streptomyces root symbionts. Agronomy, 11(5), 846.

24. He, H., Zhai, Q., Tang, Y., Gu, X ,.Pan, H., & Zhang, H. (2023). Effective biocontrol of soybean root rot by a novel bacterial strain Bacillus siamensis HT1. Physiological and Molecular Plant Pathology, 125, 101984.
25. Hirozawa, M. T., Ono, M. A., Suguiura, I. M. d. S., Bordini, J. G., & Ono, E. Y. S. (2023). Lactic acid bacteria and Bacillus spp. as fungal biological control agents. Journal of Applied Microbiology, 134(2), lxac083.
26. Höfte, M. (2021). The use of Pseudomonas spp. as bacterial biocontrol agents to control plant disease. In Microbial bioprotectants for plant disease management: Burleigh Dodds
27. Ijaz, M., Ali, Q., Ashraf, S., Kamran, M., & Rehman, A. (2019). Development of future bioformulations for sustainable agriculture. Microbiome in plant health and disease: Challenges and opportunities, 421-446.
28. Jesmina, A. R. S., Induja, D., Drissya, T., Sruthi, C. R., Raghu, K. G., Nelson-Sathi, S., Kumar, B. N. S. A. D., & Lankalapalli, R. S. (2023). In vitro antibacterial effects of combination of ciprofloxacin with compounds isolated from Streptomyces luteireticuli NIIST-D75. The Journal of Antibiotics, 76(4), 198-210.
29. Jiménez-Villeda, B. E., Falfán-Cortés, R. N., Rangel-Vargas, E., Santos-López, E. M., Gómez-Aldapa, C. A., Torres-Vitela, M. R., Villarruel-López, A., & Castro-Rosas, J. (2023) .Synbiotic encapsulation: a trend towards increasing viability and probiotic effect. Journal of Food Processing and Preservation, 2023(1), 7057462.
30. Kaari, M., Joseph, J., Manikkam, R., Sreenivasan, A., & Venugopal, G. (2022). Biological control of Streptomyces sp. UT4A49 to suppress tomato bacterial wilt disease and its metabolite profiling. Journal of King Saud University-Science, 34(1), 101688.
31. Knowles, A. (2008). Recent developments of safer formulations of agrochemicals. In The Environmentalist Vol. 28, pp. 35-44
32. Kumar, H. D., & Aloke, P. (2020). Role of biostimulant formulations in crop production: An overview. Int. J. Appl. Res. Vet. M, 8, 38-46.
33. Lahlali, R., Ezrari, S., Radouane, N., Kenfaoui, J., Esmaeel, Q., El Hamss, H., Belabess, Z., & Barka, E. A. (2022). Biological control of plant pathogens: A global perspective. Microorganisms, 10(3), 596.
34. Lajis, A. F. B. (2020). Biomanufacturing process for the production of bacteriocins from Bacillaceae family. Bioresources and Bioprocessing, 7, 1-26.
35. Ma, Z., Geudens, N., Kieu, N. P., Sinnaeve, D., Ongena, M., Martins, J. C., & Höfte, M. (2016). Biosynthesis, chemical structure, and structure-activity relationship of orfamide lipopeptides produced by Pseudomonas protegens and related species. Frontiers in Microbiology, 7, 382.
36. MacDonald, J., Banihashemi, Z., Mircetich, S., Browne, G., & Bolkan, L. (1992). Trunk and branch canker of pistachio caused by Phytophthora spp. Phytopathology, 82(10), 1084.
37. Malvi, S., Bhatt, J., Das, A. K., Pali, P., Kumar ,A., Chouhan, A., Chichghare, S., & Kharte, S. (2023). Identification and characterization of endophytic bacteria isolated from citrus roots with biocontrol potential against Phytophthora nicotianae. Indian Phytopathology, 76(1), 191-199.

38. Manchikanti, P. (2019). Bioavailability and environmental safety of nanobiopesticides. In Nano-Biopesticides Today and Future Perspectives pp. 207-222
39. Mehmood, N., Saeed, M., Zafarullah, S., Hyder, S., Rizvi, Z. F., Gondal, A. S., Jamil, N., Iqbal, R., Ali, B., & Ercisli ,S. (2023). Multifaceted impacts of plant-beneficial pseudomonas spp. in managing various plant diseases and crop yield improvement. ACS omega, 8(25), 22296-22315.
40. Mirsoleimani, Z., & Mostowfizadeh-Ghalamfarsa, R. (2013). Characterization of Phytophthora pistaciae, the causal agent of pistachio gummosis, based on host range, morphology, and ribosomal genome. Phytopathologia Mediterranea, 501-516.
41. Mohammadi, H., Sarcheshmehpour, M., & Mafi, E. (2015). Fungal trunk pathogens associated with wood decay of pistachio trees in Iran. Spanish Journal of Agricultural Research, 13(2), e1007-e1007.
42. Mohammed, N. K., Tan, C. P., Manap, Y. A., Muhialdin, B. J., & Hussin, A. S. M. (2020). Spray drying for the encapsulation of oils—A review. Molecules, 25(17), 3873.
43. Moradi, M., Jafari Nejad, F., Shahidi Bonjar, G. H., Fani, S. R., Mahmudi Mimand, B., Probst, C., & Madani, M. (2018). Efficacy of Bacillus subtilis native strains for biocontrol of Phytophthora crown and root rot of pistachio in Iran. Tropical Plant Pathology, 43, 306-313.
44. Moradi Pour, M., Hassanisaadi, M., Kennedy, J. F., & Saberi Riseh, R. (2024). A novel biopolymer technique for encapsulation of Bacillus velezensis BV9 into double coating biopolymer made by in alginate and natural gums to biocontrol of wheat take-all disease. International Journal of Biological Macromolecules, 257, 128526.
45. Moradi Pour , M., Saberi Riseh , R., Mohammadinejad, R., & Hosseini, A. (2019). Biological control of Phytophthora drechsleri the causal agent of pistachio gummosis by Bacillus subtilis (VRU1 strain) in green house condition. Pistachio and Health Journal, 2, 53-61.
46. Moradi Pour, M., Saberi Riseh, R., Ranjbar-Karimi, R., Hassanisaadi, M., Rahdar, A., & Baino, F. (2022a). Microencapsulation of Bacillus velezensis using alginate-gum polymers enriched with TiO2 and SiO2 nanoparticles. Micromachines, 13(9), 1423.
47. Moradi Pour, M., Saberi Riseh, R., & Skorik, Y. A. (2022b). Sodium alginate–gelatin nanoformulations for encapsulation of Bacillus velezensis and their use for biological control of pistachio gummosis. Materials, 15(6), 2114.
48. Mostowfizadeh-Ghalamfarsa, R., Cooke, D., & Banihashemi, Z. (2008). Phytophthora parsiana sp. nov., a new high-temperature tolerant species. Mycological Research, 112(7), 783-794.
49. Ngamcharungchit, C., Chaimusik, N., Panbangred, W., Euanorasetr, J., & Intra, B. (2023). Bioactive metabolites from terrestrial and marine actinomycetes. Molecules, 28(15), 5915.
50. Okey- Onyesolu, C. F., Hassanisaadi, M., Bilal, M., Barani, M., Rahdar, A., Iqbal, J., & Kyzas, G. Z. (2021). Nanomaterials as nanofertilizers and nanopesticides: an overview. ChemistrySelect, 6(33), 8645-8663.
51. Pirzada, T., de Farias, B. V., Mathew, R., Guenther, R. H., Byrd, M. V., Sit, T. L., Pal, L., Opperman, C. H., & Khan, S. A. (2020). Recent advances in biodegradable matrices for active ingredient release in crop protection: Towards attaining sustainability in agriculture. Current

opinion in colloid & interface science, 48, 121-136.

52. Saberi Riseh, R., Gholizadeh Vazvani, M., Hassanisaadi ,M., & Skorik, Y. A. (2023). Micro-/nano-carboxymethyl cellulose as a promising biopolymer with prospects in the agriculture sector: A review. Polymers, 15(2), 440.
53. Saberi Riseh, R., Hassanisaadi, M., Vatankhah, M., & Kennedy, J. F. (2023a). Encapsulating biocontrol bacteria with starch as a safe and edible biopolymer to alleviate plant diseases: A review. Carbohydrate Polymers, 302, 120384.
54. Saberi Riseh, R., Hassanisaadi, M., Vatankhah, M., Soroush, F., & Varma, R. S. (2022). Nano/microencapsulation of plant biocontrol agents by chitosan, alginate, and other important biopolymers as a novel strategy for alleviating plant biotic stresses. International Journal of Biological Macromolecules, 222, 1589-1604.
55. Saberi Riseh, R., Vatankhah, M., Hassanisaadi, M & ,.Kennedy, J. F. (2023b). Increasing the efficiency of agricultural fertilizers using cellulose nanofibrils: A review. Carbohydrate Polymers, 121313.
56. Samada, L. H., & Tambunan, U. S. F. (2020). Biopesticides as promising alternatives to chemical pesticides: A review of their current and future status. Online J. Biol. Sci, 20(2), 66-76.
57. Schisler, D., Slininger, P., Behle, R., & Jackson, M. (2004). Formulation of Bacillus spp. for biological control of plant diseases. Phytopathology, 94(11), 1267-1271.
58. Shahidi Bonjar, G., Barkhordar, B., Pakgohar, N., Aghighi, S., Biglary, S., Farrokhi, P. R., Aminaii, M., Mahdavi, M., & Aghelizadeh, A. (2006). Biological control of Phytophthora drechsleri Tucker, the causal agent of pistachio gummosis, under greenhouse conditions by use of Actinomycetes .
59. Singh, G., & Paithankar, I. (2023). Encapsulation of Biofertilizers, Biopesticides and Biocontrol Agents. In Sustainable Agriculture Reviews 60: Microbial Processes in Agriculture pp. 121-150: Springer
60. Smits, T. H., Duffy, B., Blom, J., Ishimaru, C. A., & Stockwell, V. O. (2019). Pantocin A, a peptide-derived antibiotic involved in biological control by plant-associated Pantoea species. Archives of microbiology, 201, 713-722.
61. Šunjka, D., & Mechora, Š. (2022). An alternative source of biopesticides and improvement in their formulation—recent advances. Plants, 11(22), 3172.
62. Tariq, M., Khan, A., Asif, M., Khan, F., Ansari, T., Shariq, M., & Siddiqui, M. A. (2020). Biological control: a sustainable and practical approach for plant disease management. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil & Plant Science, 70(6), 507-524.
63. Weller, D. M. (1988). Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. Annual review of phytopathology, 26(1), 379-407.

# Studying Different Formulations of Plant Antagonistic Bacteria in the Control of Pistachio Gummosis Disease

**Mohadeseh Hassanisaadi[1], Roohallah Saberi Riseh[1*]**

**Abstract**

Regarding worldwide economic significance, pistachio (*Pistacia vera* L., Anacardiaceae) is second only to oil in importance to Iran's exports and the fifth most commercially produced product globally. Annually, the yield of pistachio trees is negatively impacted by gummosis disease caused by *Phytophthora* spp. as one of the most crucial root and crown rot diseases in pistachio. Although chemical treatment is one way to control this disease, agricultural poisons have an irreversible environmental effect. Using plant antagonistic microorganisms offers a promising strategy to replace chemical pesticides to control pistachio gummosis. Despite their ability, the practical use of these microorganisms has faced challenges in conventional formulations. For example, environmental variables and their short shelf life limit their utilization. To address these limitations, formulating bacteria using a new encapsulation technique can enhance their efficacy and increase their shelf life, leading to a slower release. This review article discusses pistachio gummosis disease, highlighting the role of plant-antagonistic bacteria as a practical management approach. It also studies different formulations for formulation bacteria. Additionally, the article delves into the advantages of encapsulation, a novel technique for formulating microorganisms that combat plant diseases.

**Keywords:** Crown and root rot, Antagonistic bacteria, Biocontrol, Formulations, Encapsulations.

[1] Department of plant protection. Faculty of agriculture. Vali-e-Asr university of Rafsanjan. Iran.
[*] corresponding author: r.saberi@vru.ac.ir