Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 40, No. 3, 2026, p. 689-703

Investigating of the Pyocyanin Effect in Controlling Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Root and Crown Rot Disease Caused by *Rhizoctonia solani*

Arefe Rahimi [1], Saeed Tarighi [1*], Parissa Taheri [1]

1- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
(*- Corresponding author's Email: starighi@um.ac.ir)

Received: 30-11-2025
Revised: 17-01-2026
Accepted: 31-01-2026
Available Online: 22-06-2026

How to cite this article:
Rahimi, A., Tarighi, S., & Taheri, P. (2026). Investigating of the pyocyanin effect in controlling tomato (*Solanum lycopersicum* L.) root and crown rot disease caused by *Rhizoctonia solani*. *Iranian Plant Protection Research*, *40*(3), 689-703. (In Persian). https://doi.org/10.22067/JPP.2026/96777.1266

Introduction

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is among the most important vegetable crops worldwide due to its substantial nutritional value, economic relevance, and extensive consumption. However, tomato production is continuously challenged by numerous soil-borne pathogens, among which *Rhizoctonia solani* AG4-HG II is recognized as a major causal agent of root and crown rot. This pathogen can severely damage the root system, restrict nutrient uptake, and ultimately lead to plant collapse, resulting in significant yield loss. Conventional chemical fungicides, although widely used, present serious limitations, including environmental risks, development of resistance, and potential negative effects on beneficial soil microbiota. Consequently, biological control strategies, especially those involving plant growth promoting rhizobacteria (PGPR), have emerged as sustainable alternatives. Among PGPR, *Pseudomonas aeruginosa* is known for synthesizing diverse secondary metabolites, including phenazine compounds with strong antimicrobial properties. Pyocyanin, a blue-green phenazine pigment, has been widely studied for its antibacterial and antifungal effects. Despite the growing interest in this metabolite, its specific antagonistic activity against *R. solani* AG4-HG II and its influence on tomato plant performance have not been adequately addressed. To fill this knowledge gap, the present research aimed to isolate and purify pyocyanin from *P. aeruginosa* PA14, evaluate its antifungal efficiency, and determine its potential as a biological control agent against tomato root and crown rot. This study was carried out at Ferdowsi University of Mashhad between 2023 and 2025.

Materials and Methods

Pseudomonas aeruginosa PA14 and Rhizoctonia solani AG4-HG II were cultured under standard laboratory conditions to obtain fresh and active microbial material. Pyocyanin was extracted from the bacterial supernatant using a chloroform based solvent extraction followed by acid-base purification to obtain a purified pigment. To evaluate the antifungal activity of pyocyanin, a single-sided plate culture assay was performed on potato dextrose agar (PDA). The minimum inhibitory concentration (MIC) was defined as the lowest concentration of pyocyanin that completely inhibited fungal growth. To assess morphological changes caused by pyocyanin, fungal hyphae from the treated plates were examined under a light microscope, and structural abnormalities such as swelling, fragmentation, or collapse of the cell wall were recorded. In the greenhouse experiment, tomato seedlings were treated with pyocyanin at a concentration of 83.33 µg/mL and subsequently inoculated with R. solani. Statistical analyses were conducted using analysis of variance (ANOVA), and differences among means were determined using Duncan's multiple range test at $P < 0.05$.

Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)

https://doi.org/10.22067/JPP.2026/96777.1266

Results and Discussion

Pyocyanin extracted from *Pseudomonas aeruginosa* PA14 demonstrated a significant inhibitory effect on the growth of *Rhizoctonia solani* AG4-HG II, with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 83.33 µg mL^{-1}. Microscopic observations revealed notable morphological alterations in fungal hyphae treated with pyocyanin, including swelling, fragmentation, and cytoplasmic degradation, indicating severe damage to the fungal structures. These findings confirm the potent antifungal properties of pyocyanin and its direct antagonistic effect on the pathogen. In greenhouse trials, treatment with pyocyanin led to a marked reduction in disease severity in tomato seedlings and leaf discs inoculated with *R. solani*. Based on these observations, it is evident that pyocyanin functions as a highly effective antifungal metabolite capable of disrupting key infection structures of the pathogen. The consistency between in vitro and greenhouse results further supports the reliability of pyocyanin as a biocontrol agent. These outcomes align with previous reports showing that phenazine compounds produced by *Pseudomonas* species suppress soil-borne pathogens through direct mycelial disruption and inhibition of fungal development. Overall, the strong antagonistic activity of pyocyanin highlights its promising potential for use in sustainable and environmentally friendly disease management strategies aimed at reducing reliance on chemical fungicides.

Conclusion

This study demonstrated that pyocyanin extracted from *Pseudomonas aeruginosa* PA14 effectively controlled tomato root and crown rot caused by *Rhizoctonia solani* AG4-HG II by inhibiting fungal growth, disrupting infection structures, and enhancing the plant's systemic resistance. In addition to its direct antifungal activity, pyocyanin contributed to improved plant health under pathogen pressure. The dual mode of action of pyocyanin as both a bioactive compound directly antagonizing the pathogen and as an inducer of plant defense mechanisms highlights its potential as a sustainable and eco-friendly alternative to conventional chemical fungicides. However, while the greenhouse results are promising, further studies under field conditions are essential to validate its practical applicability. Moreover, elucidating the molecular and biochemical pathways involved in pyocyanin-induced resistance would deepen understanding and support the development of effective biocontrol strategies. Overall, pyocyanin represents a valuable biocontrol agent with significant potential for managing soil-borne diseases in tomato and possibly other crops, contributing to sustainable agriculture and reduced reliance on chemical inputs.

Keywords: Antagonist, Biological control, Fenazines, Metabolite, Pathogen

پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران
https://jpp.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۴۰ شماره ۳، پاییز ۱۴۰۵، ص. ۷۰۳-۶۸۹

بررسی اثر پیوسیانین در مهار بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) ایجادشده توسط *Rhizoctonia solani*

عارفه رحیمی[۱]- سعید طریقی[۱*]- پریسا طاهری[۱]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۹/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۱۱

چکیده

گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی جهان به شمار می‌رود که به‌دلیل ارزش غذایی بالا و کاربرد وسیع در صنایع غذایی، جایگاه ویژه‌ای در سبد غذایی مردم دارد. یکی از بیماری‌های مهم و خسارت‌زای این گیاه، پوسیدگی ریشه و طوقه ناشی از قارچ *Rhizoctonia solani* است. این بیماری به‌ویژه در مراحل گیاهچه‌ای و بلوغ گیاه رخ داده و می‌تواند عملکرد محصول را تا حدود ۶۰ درصد کاهش دهد. امروزه مدیریت زیستی بیمارگرهای گیاهی به‌وسیله ریزجانداران آنتاگونیست به‌عنوان روشی سازگار با محیط‌زیست به‌عنوان جایگزین روش‌های شیمیایی مطرح شده است. یکی از این روش‌ها، استفاده از ترکیباتی است که توسط باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPRs) تولید می‌شوند. در این پژوهش، پیوسیانین از باکتری *Pseudomonas aeruginosa* PA14 استخراج گردید، سپس برای بررسی فعالیت ضدقارچی آن، روش کشت یک‌طرفه به‌کار گرفته شد و کاهش قطر پرگنه و درصد بازدارندگی به‌میزان ۵۱/۲۴ درصد، نشان‌دهنده فعالیت آنتاگونیستی مؤثر پیوسیانین بود. حداقل غلظت MIC پیوسیانین نیز اندازه‌گیری و برابر ۸۳/۳۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه گردید که باعث مهار رشد میسلیوم قارچ بیمارگر و کاهش معنی‌دار شاخص بیماری تا ۹۹/۹۴ درصد در گیاهان گوجه‌فرنگی رقم موبیل شد. پیوسیانین به‌عنوان یک ترکیب زیست‌فعال، با راهبردهای مختلف شامل تخریب ساختارهای قارچی، مهار رشد میسلیوم و اختلال در فرآیندهای فیزیولوژیکی بیمارگر در آزمایشگاه و گلخانه، نقش مؤثری در مهار بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه ایفا کرد. علاوه‌بر این، پیوسیانین به‌دلیل ماهیت طبیعی و اثرات کم‌ضرر آن بر محیط‌زیست، به‌عنوان جایگزینی مناسب و پایدار برای قارچ‌کش‌های شیمیایی مطرح است. یافته‌های این تحقیق نشان‌داد که پیوسیانین توانست تا ۹۹ درصد موجب کاهش رشد قارچ بیمارگر و افزایش بهره‌وری در کشت گوجه‌فرنگی شود.

واژه‌های کلیدی: آنتاگونیست، بیمارگر، فنازین، متابولیت، مدیریت‌زیستی

مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.)، متعلق به خانواده بادنجانیان (solanaceae) (Taylor, 1986) و یکی از سبزیجات مهم و پرمصرف در سراسر جهان است که به‌دلیل غنی بودن از ویتامین‌ها (به‌ویژه ویتامین C و A)، مواد معدنی و آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند لیکوپن، نقش مهمی در رژیم غذایی انسان ایفا می‌کند (Salim et al., 2020). تولید جهانی این محصول بیش از ۱۸۰ میلیون تن می‌باشد (Wikifarmer, 2024) این گیاه به‌عنوان یک محصول مهم در بسیاری از کشورها، هم به‌صورت تازه‌خوری و هم در صنایع تبدیلی (مانند رب، سس و کنسرو) مورد استفاده قرار می‌گیرد. با وجود اهمیت اقتصادی و غذایی بالا، تولید گوجه‌فرنگی همواره با چالش‌هایی از جمله آفات و بیماری‌های مختلف مواجه است (Khokhar & Kumar, 2024).

یکی از بیماری‌های مهم پوسیدگی ریشه و طوقه در گوجه‌فرنگی، *Rhizoctonia solani* است (Solanki et al., 2012; Pourmahdi & Taheri, 2015). این قارچ دارای دامنه میزبانی وسیعی بوده و می‌تواند به انواع مختلفی از محصولات کشاورزی از جمله گوجه‌فرنگی، سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum* L.)، ذرت (*Zea mays* L.)، پنبه (*Gossypium herbaceum* L.) و غلات ایجاد خسارت کند. قارچ *R. solani* باعث بروز بیماری‌های مختلفی از

۱- گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: starighi@um.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/JPP.2026/96777.1266

جمله پوسیدگی ریشه و پژمردگی ساقه در گیاهان می‌شود. در گوجه‌فرنگی، این قارچ سبب بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه می‌شود که می‌تواند منجر به کاهش عملکرد محصول تا ۶۰ درصد شود (Agarwal et al., 2023; Halifu et al., 2019). این قارچ با ایجاد ضایعات نکروتیک در ریشه و طوقه گیاه، مانع از جذب آب و مواد غذایی می‌شود که در نهایت موجب ضعف عمومی گیاه و مرگ آن می‌گردد (Tjamos et al., 2013).

مدیریت این بیماری به‌دلیل گستردگی دامنه میزبانی و قابلیت زنده ماندن قارچ در خاک به‌شکل میسلیوم و اسکلروت، دشوار است. استفاده مکرر از قارچ‌کش‌های شیمیایی با عوارض زیست‌محیطی و مقاومت قارچ‌ها، پژوهشگران را به سمت روش‌های مدیریت زیستی هدایت کرده است (Paulitz & Bélanger, 2001). مدیریت زیستی معمولاً شامل استفاده از ریزموجوداتی مانند باکتری‌ها (مثل *Bacillus* spp. یا *Pseudomonas* spp.)، قارچ‌ها (مثل *Trichoderma* spp.)، ویروس‌ها یا آنتاگونیست‌های طبیعی دیگر برای مقابله با بیمارگرها است (Eilenberg et al., 2001). یکی از این راهکارهای زیستی، استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR)[1] می‌باشد.

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که سویه‌های مختلف *P. aeruginosa* و *P. fluorescens* با تولید متابولیت‌های ثانویه مانند فنازین‌ها، ۲،۴-دی استیل فلوروگلوسینول (2,4-DAPG)[2]، پیولوتئورین، پیرول نیترین، هیدروژن سیانید (HCN)، سیدروفورها و آنزیم‌های هیدرولیتیک نظیر کیتیناز و گلوکاناز، قادر به مهار رشد بیمارگرهای قارچی و باکتریایی هستند (Islam et al., 2018).

از جمله این باکتری‌ها، *P. aeruginosa* PA14 است که توانایی بالایی در تولید ترکیبات ضدمیکروبی از جمله پیوسیانین، هیدروژن سیانید، سیدروفور و آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره سلولی قارچ‌ها دارد (Lau et al., 2004).

P. aeruginosa یک باکتری گرم منفی، متحرک و هوازی اختیاری است که به‌طور گسترده در محیط‌های مختلف از جمله خاک، آب و محیط‌های بالینی یافت می‌شود (Wu et al., 2015). این باکتری قابلیت تولید طیف وسیعی از متابولیت‌های ثانویه زیست‌فعال را دارد که برخی از آن‌ها دارای خواص ضدمیکروبی قوی هستند. پیوسیانین (Pyocyanin)، یکی از مهم‌ترین رنگدانه‌های فنازینی تولیدشده توسط *P. aeruginosa* است که به رنگ سبز–آبی بوده و دارای سمیت، خواص ضدمیکروبی و سرکوب‌کننده سیستم ایمنی است (Feghali & Na'was, 2018; El-Fouly et al., 2015). این ترکیب با تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و اختلال در فعالیت‌های سلولی بیمارگرها، اثرات ضدمیکروبی خود را اعمال می‌کند (Sudhakar et al., 2013).

گونه‌های خاک‌زی باکتری *P. aeruginosa* به‌عنوان عوامل مهار زیستی علیه *Fusarium* spp.، عامل پژمردگی نخود (*Cicer arietinum* L.) و مرگ گیاهچه‌های پیتیوم لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) معرفی‌شده‌اند (Sindhu et al., 2016). در مطالعه‌ای دیگر در سال ۲۰۱۶، گونه H40 *P. aeruginosa* را در مواجهه با قارچ‌های بیمارگر بوته‌های متعدد (برنج (*Oryza sativa* L.)، بادام‌زمینی (*Arachis hypogaea* L.)، تنباکو (*Nicotiana tabacum* L.)، فلفل (*Capsicum annuum* L.) و غیره)، مانند *Sclerotium rolfsii*، *Pythium ultimum*، *Aspergillus flavus*، *R. solani*، *F. solani*، *F. oxysporum*، *A. niger* و *Alternaria solani* بررسی کردند و فعالیت ضدقارچی مؤثر پیوسیانین را نشان دادند (Selim et al., 2016). پیوسیانین تولیدشده توسط سویه 7NSK می‌تواند مقاومت سیستمیک القایی (ISR)[3] را در برابر بیماری بلاست برگ برنج افزایش داده، امّا حساسیت به *R. solani* را بیشتر کند (De Vleesschauwer et al., 2007). دبریتو و همکاران (DeBritto et al., 2020)، استخراج پیوسیانین تحت شرایط تغذیه‌ای خاص را بررسی کرده و اثر ضدقارچی آن را علیه *Macrophomina phaseolina*، عامل پوسیدگی ذغالی سویا (*Glycine max* L.)، گزارش کردند. اودنائرت و همکاران (Audenaert et al., 2002)، نقش کلیدی پیوسیانین و پیوچلین را در القای مقاومت سیستمیک علیه *Botrytis cinerea* در گوجه‌فرنگی شناسایی نمودند. در پژوهشی دیگر، فعالیت ضدقارچی پیوسیانین در برابر *F. oxysporum* بررسی و مشخص شد که جدایه HB9 بیشترین تأثیر را در مهار هاگ‌زایی و رشد هیف داشت (Mahmoud et al., 2016). در پژوهشی دیگر در عراق، پیوسیانین استخراج‌شده از *P. aeruginosa*، اثربخشی گسترده‌ای در برابر باکتری‌ها و قارچ‌های مورد بررسی داشت (Abdul-Hussein & Atia, 2016). همان‌طور که ذکر گردید، مطالعات متعددی اثرات زیستی و القای مقاومت پیوسیانین را در برابر عوامل بیماری‌زای مختلف گیاهی گزارش کرده‌اند. بااین‌حال، در ایران، بیشتر مطالعات انجام‌شده روی پیوسیانین به حوزه‌های پزشکی، بیوتکنولوژی و کاربردهای صنعتی اختصاص داشته و بررسی اثرات این رنگدانه بر بیماری‌های گیاهی به‌ویژه مهار عوامل قارچی کمتر مورد توجه قرار گرفته است (Moayedi et al., 2017; Mohseni & Shariat, 2021). با وجود اهمیت اقتصادی گوجه‌فرنگی و خسارت بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه ناشی از *R. solani*، بررسی اثر پیوسیانین بر پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی

1- plant growth-promoting rhizobacteria
2- 2,4-Diacetylphloroglucinol
3- Induced systemic resistance

می‌تواند در توسعه راهکارهای پایدار و سازگار با محیط‌زیست برای مدیریت این بیماری در ایران و جهان مؤثر باشد.

مواد و روش‌ها

سویه باکتری

سویه باکتری *Pseudomonas aeruginosa* PA14 از کلکسیون باکتری‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. در این پژوهش، در تمام مراحل انجام کار به‌منظور نگهداری و تجدید کشت این سویه، از محیط کشت Pseudomonas agar P (PAP) استفاده گردید.

جدایه قارچ

جدایه قارچی *Rhizoctonia solani* AG4-HG II از کلکسیون قارچ‌شناسی گروه بیماری‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردید، که از گوجه‌فرنگی‌های آلوده جداسازی شده بود (Pourmahdi & Taheri, 2015). در این پژوهش، به‌منظور نگهداری و تجدید کشت این جدایه، از محیط‌کشت Potato Dextrose Agar (PDA) در تشتک‌پتری سترون استفاده گردید که در دمای ۲۸ درجه‌سلسیوس به مدت پنج تا هفت روز نگهداری شد تا پرگنه‌های قارچی رشد کامل یابند و برای آزمایش‌های بعدی آماده شوند. برای هر آزمایش، از پلاگ‌های قارچی با قطر پنج میلی‌متر که از حاشیه پرگنه‌های فعال قارچ تهیه شده بودند، استفاده گردید (Agrios, 2005).

تولید، استخراج و خالص‌سازی پیوسیانین

برای اطمینان از خلوص کشت، سویه باکتری *P. aeruginosa* PA14در محیط‌کشت PAP در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت دو روز کشت داده شد و ریخت‌شناسی کلنی‌ها بررسی گردید. به‌منظور استخراج پیوسیانین، سویه باکتری در محیط مایع King's B (KB) به مدت دو روز کشت داده شد (Gahlout et al., 2017)، سپس سانتریفیوژ شده و مایع رویی با کلروفرم (۱:۱) استخراج گردید. پس از تغییر رنگ مایع زیرین با افزودن HCl ۰/۱ نرمال (۱:۲) و سپس NaOHیک نرمال به‌صورت قطره‌قطره قلیایی شد و بلورهای پیوسیانین استخراج شدند (Emad & Abdelaziz et al., 2023 ; Feghali & Na'was, 2018Alsalim, 2017 ;).

بررسی خاصیت بازدارندگی پیوسیانین علیه قارچ بیمارگر در آزمایشگاه

به‌منظور بررسی خاصیت بازدارندگی پیوسیانین علیه قارچ AG4-HG II *R. solani* از روش کشت یک‌طرفه استفاده شد. به این صورت که یک سمت تشتک‌پتری هشت سانتی‌متری حاوی محیط کشت PDA، ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون حاوی ۰/۱گرم پیوسیانین حل‌شده در یک میلی‌لیتر آب مقطر استریل، داخل چاهک به قطر پنج میلی‌متر اضافه گردید. در سمت دیگر یک پلاگ قارچ *R. solani* کشت شد (Sánchez-Fernández et al., 2016). به‌جای پیوسیانین در پتری شاهد، آب‌مقطر سترون داخل چاهک اضافه گردید. تشتک‌پتری‌ها در انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سلسیوس قرار گرفتند. زمانی‌که قارچ بیمارگر در تشتک‌پتری شاهد به‌طور کامل رشد کرد، رشد میسلیوم‌های قارچ بیمارگر اندازه گیری گردید. این آزمایش دو مرتبه و هر مرتبه با سه تکرار انجام شد و درصد بازدارندگی طبق (Noori & Mohd Saud, 2012) محاسبه گردید.

$$n = \left(\frac{a-b}{a}\right) \times 100 \quad (۱)$$

که در آن، n: درصدبازدارنگی رشد میسلیومی قارچ بیمارگر، a: قطر پرگنه قارچ بیمارگر در شاهد و b: قطر پرگنه قارچ بیمارگر در تیمار است.

سنجش MIC[1] پیوسیانین

حداقل غلظتی از پیوسیانین که منجر به مهار رشد قابل مشاهده میسلیوم قارچ نسبت به شاهد شود به‌عنوان MIC در نظر گرفته شد (Andrews, 2001). برای سنجش MIC پیوسیانین، از روش سری‌رقت و کشت در محیط حاوی سری‌های‌رقت استفاده شد. لوله‌های فالکن از قبل از 10^{-1} تا 10^{-9} علامت‌گذاری شده بودند و حاوی سه میلی‌لیتر آب مقطر سترون بودند، به‌این ترتیب، ۰/۱میلی‌گرم پودر پیوسیانین در ۱۰میلی‌لیتر آب مقطر سترون حل شد و به لوله فالکن اول (10^{-1}) اضافه و به‌خوبی مخلوط گردید، سپس از لوله‌فالکن اول یک میلی‌لیتر برداشته و به لوله فالکن دوم (10^{-2}) اضافه شد، باقی مراحل به همین صورت انجام گردید. پس از آن، محتوای هر لوله فالکن با ۱۷ میلی‌لیتر محیط کشت PDA مخلوط و داخل تشتک‌پتری سترون ریخته شد. بعد از ۲۴ ساعت، قطعه میسلیومی به قطر پنج میلی‌متر از قارچ *R. solani* AG4-HG II در مرکز تشتک‌پتری قرار داده شد و به مدت پنج تا هفت روز در دمای ۲۸ درجه‌سلسیوس انکوبه گردید. در پایان دوره، قطر رشد میسلیوم در تیمارها با شاهد منفی مقایسه گردید (Sun et al., 2015). این آزمایش با سه تکرار برای پیوسیانین انجام شد و سپس درصد بازدارندگی مطابق روش نوری محاسبه گردید (Noori & Mohd Saud, 2012).

1- Minimum Inhibitory Concentration

بررسی اثر پیوسیانین بر خصوصیات ریخت‌شناسی قارچ *R. solani*

تغییرات ریخت‌شناختی ریسه‌های قارچ بیمارگر *R. solani* در حضور پیوسیانین مورد بررسی قرار گرفت. برای مشاهده ریسه‌ها از نوارچسب استفاده شد. در این روش، نوار چسبی به‌آرامی روی ریسه‌های قارچی در محل هاله بازدارنده قرار گرفت تا نمونه‌ای از ریسه‌ها برداشته شود (Maurya et al., 2011). نمونه‌ها پس از آماده‌سازی با میکروسکوپ نوری (مدل 872E، ساخت Carl Zeiss AG) مشاهده شدند و تغییرات ریخت‌شناختی ریسه‌ها مورد بررسی قرارگرفت.

کشت بذور گوجه‌فرنگی

بذور گوجه‌فرنگی رقم موبیل (Mobil) به مدت دو دقیقه با استفاده از سدیم هیپوکلریت ۰/۱ درصد ضدعفونی و سه مرتبه با آب مقطر سترون شستشو شدند، سپس در سینی نشاء و بعد از آن به گلدان‌های حاوی خاک‌برگ، خاک مزرعه و پرلیت (۱:۲:۱) سترون منتقل گردید. گلدان‌ها در گلخانه با رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد و دمای روز و شب به‌ترتیب ۲۷/۳ و ۲۲/۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام و سه تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد.

تهیه مایه تلقیح *R. solani*

تلقیح قارچ بیمارگر *R. solani* AG4-HG II به‌وسیله خلال‌دندان به‌طول دو سانتی‌متر که سترون و سپس کلونیزه شده، انجام گردید. به این ترتیب که روی سطح محیط کشت PDA، ۱۵ قطعه خلال دندان در محیط قرار داده شد و سپس یک قطعه میسلیوم قارچ در مرکز تشتک‌پتری قرار گرفت. نمونه‌ها به مدت یک هفته در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگهداری شدند (Taheri et al., 2007). خلال‌دندان‌ها روی ساقه گیاه در فاصله دو سانتی‌متری از سطح خاک قرار گرفتند (Daroodi et al., 2022).

تلقیح پیوسیانین به نهال‌های گوجه‌فرنگی

محلول پیوسیانین با غلظت ۸۳/۳۳ میکروگرم برمیلی‌لیتر تهیه شد و یک هفته بعد از انتقال نشاءها به گلدانها، در پای طوقه گیاهان اسپری شد. محلول پاشی دوم ۴۸ ساعت بعد از تلقیح با قارچ بیمارگر انجام شد.

اثر پیوسیانین بر شدت بیماری ایجادشده توسط *R. solani*در نهال‌های گوجه‌فرنگی

برای بررسی اثر پیوسیانین بر مدیریت بیمارگر در گلخانه، یک هفته بعد از شروع تلقیح پیوسیانین به نهال‌های گوجه‌فرنگی، گیاهان با قارچ بیمارگر به‌وسیله خلال‌دندان تلقیح شدند و بعد از آن نیز محلول‌پاشی پیوسیانین ادامه یافت. گیاهان تلقیح‌شده در گلخانه با رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد و میانگین دمای ۲۴ درجه‌سلسیوس نگهداری شدند. پس از هفت روز، گیاهان به‌دقت از خاک خارج شده و شدت بیماری با استفاده از (۲ به دست آمد.

بررسی شاخص بیماری روی قرص‌های برگی

برای اندازه‌گیری شاخص بیماری با استفاده از روش قرص‌های برگی، نمونه‌های برگی به قطر دو سانتی‌متر از برگ‌های اول گیاهان گوجه‌فرنگی در زمان‌های مختلف ۰، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تیمار شدن با پیوسیانین و گیاه شاهد (فاقد پیوسیانین) برداشته شد. این قرص‌های برگی روی لام شیشه‌ای داخل تشتک‌پتری حاوی کاغذ صافی مرطوب قرار گرفتند. سپس هر قرص با یک پلاگ پنج میلی‌متری از میسیلیوم قارچ *R. solani* AG4 HG-II تلقیح گردید. تشتک‌پتری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس و دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. پس از پنج روز، علائم بیماری براساس میزان پوسیدگی و تغییر رنگ برگ‌ها ارزیابی و درجه‌بندی شدند (Nikraftar et al., 2013). در ادامه، شاخص بیماری با استفاده از معادله ۲ (Nikraftar et al., 2016) محاسبه گردید.

$$DI = \left(\frac{0n_0 + 1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4}{4N}\right) \times 100 \quad (۲)$$

که در آن، ۰: عدم آلودگی، ۱: درصد آلودگی ۲۵-۱، ۲: درصد آلودگی ۵۰-۲۶، ۳: درصد آلودگی ۷۵-۵۱ و ۴: درصد آلودگی ۱۰۰-۷۶ است.

اثر پیوسیانین روی شاخص بیماری ایجادشده توسط بیمارگر در نهال‌های گوجه‌فرنگی

تعیین شاخص بیماری *R. solani* AG4 HG-II روی نهال‌های گوجه‌فرنگی هفت روز بعد از تلقیح بیمارگر انجام شد. ارزیابی نواحی نکروزه و زخمی با مقایسه بین گیاهچه های تیمارشده با پیوسیانین، آب (شاهد منفی) و قارچ‌کش ایپرودیون کاربندازیم (یک گرم در لیتر به‌صورت محلول‌پاشی)، با استفاده از درجه‌بندی زیر صورت گرفت (Wen et al., 2005).

۱. طول نکروز ریشه کمتر از ۲/۵ میلی‌متر
۲. نکروز بین ۵-۲/۵میلی‌متر
۳. نکروز بیش از ۵ میلی‌متر
۴. پوشاندن زخم دور تا دور طوقه و ریشه
۵. مرگ گیاهچه

سپس شاخص بیماری طبق (۲ محاسبه شد.

بررسی تشکیل ساختارهای آلوده‌کننده توسط قارچ *R. solani*

برای بررسی فرآیند آلوده‌سازی توسط قارچ *R. solani* AG4 HG-II، قرص‌های برگی از گیاهان گوجه‌فرنگی تلقیح‌شده با پیوسیانین و گیاه شاهد تهیه شدند. گیاه شاهد در این آزمایش تنها با آب آبیاری شده و هیچ‌گونه پیوسیانینی دریافت نکرده بود. سپس، این قرص‌ها طبق روش قبلی با *R. solani* AG4 HG-II تلقیح گردید. پنج روز پس از تلقیح، رنگ‌آمیزی ریسه‌ها با استفاده از آنیلین‌بلو انجام شد. در این روش، قرص‌های برگی ابتدا به مدت یک شب در محلول AFE (شامل پنج درصد اسیداستیک، دو درصد فرمالدهید و ۶۳ درصد اتانول) قرار گرفتند. سپس در محلول لاکتوفنول در دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند. در نهایت، ساختارهای آلوده‌کننده قارچ بیمارگر با محلول لاکتوفنول حاوی آنیلین بلو یک درصد رنگ‌آمیزی شده و با میکروسکوپ نوری (مدل 872E، ساخت Carl Zeiss AG) مشاهده گردید (Nikraftar et al., 2013).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار برای هر تیمار در هر آزمایش انجام شدند و هر آزمایش سه بار تکرار گردید. تجزیه و تحلیل آماری میانگین داده‌های هر آزمایش با استفاده از نرم افزار SPSS statistics 27 و آزمون دانکن در سطح پنج درصد ($P< 0.05$) انجام شد. تمامی نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel2016 رسم گردید.

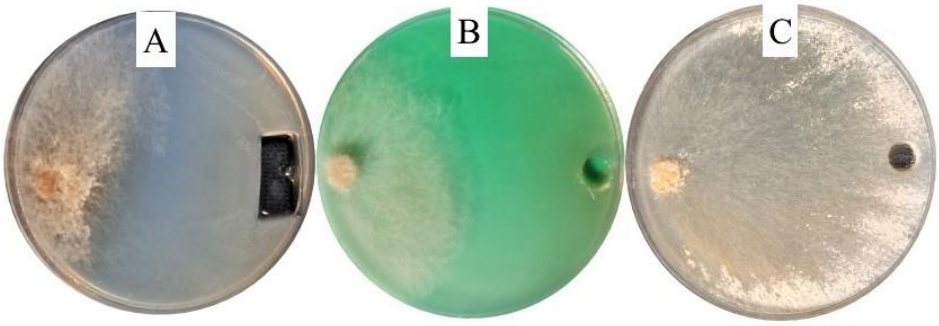
نتایج

بررسی توانایی بازدارندگی پیوسیانین در کشت یک‌طرفه با قارچ بیمارگر

در تمام پتری‌ها هاله بازدارنده مشاهده شد. پیوسیانین استخراج شده از *Pseudomonas aeruginosa* PA14 با ایجاد هاله بازدارنده به قطر ۵/۵۶ ±۴۱ سانتی‌متر از رشد قارچ بیمارگر ممانعت کرد. کاهش قطر پرگنه و درصد بازدارندگی به‌مقدار ۵۱/۲۴ درصد در حضور این ترکیب نشان می‌دهد که دارای خاصیت آنتاگونیستی مؤثر علیه عامل بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی است. تفاوت چاهک در تشتک‌های‌پتری حاوی پیوسیانین (شکل ۱ A و B) تنها برای پخش‌شوندگی بهتر پیوسیانین بود. در هر دو حالت، پیوسیانین توانست به‌خوبی جلوی پیشروی میسلیوم‌های قارچ بیمارگر را نسبت به شاهد (شکل ۱ C) بگیرد.

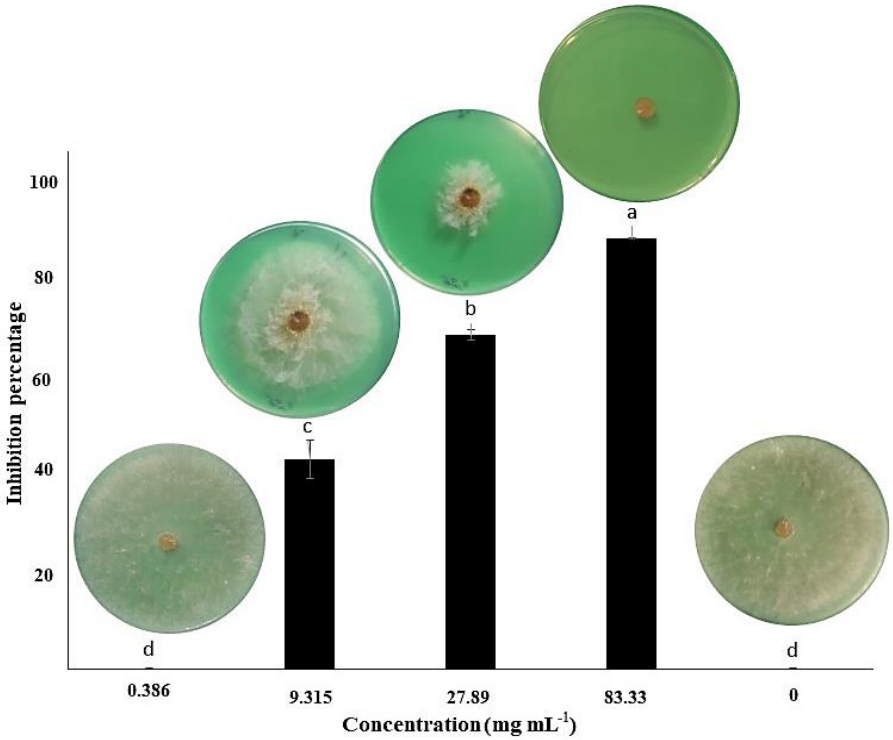
بررسی MIC پیوسیانین

طبق داده‌های به‌دست‌آمده، غلظت ۸۳/۳۳ میکروگرم بر میلی‌لیتر با درصد بازدارندگی ۹۹/۹۴ درصد به‌عنوان MIC پیوسیانین در این مطالعه اندازه‌گیری شد. در غلظت‌های ۰/۳۸۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر و کمتر، درصد بازدارندگی مشابه تشتک‌پتری شاهد حاوی آب مقطر سترون و نزدیک به صفر بود (شکل ۲).



شکل ۱- نمونه‌های کشت یک‌طرفه برای بررسی توانایی بازدارندگی پیوسیانین تولیدشده توسط باکتری *Pseudomonas aeruginosa* PA14 علیه قارچ *Rhizoctonia solani* AG4 HG- II. تشتک‌پتری حاوی پیوسیانین (A,B) و تشتک‌پتری شاهد (C)

Figure 1- Single-sided culture samples for evaluating the inhibitory effect of pyocyanin produced by *Pseudomonas aeruginosa* PA14 against the fungus *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II. Petri dishes containing pyocyanin (A, B) and the control Petri dish (C)

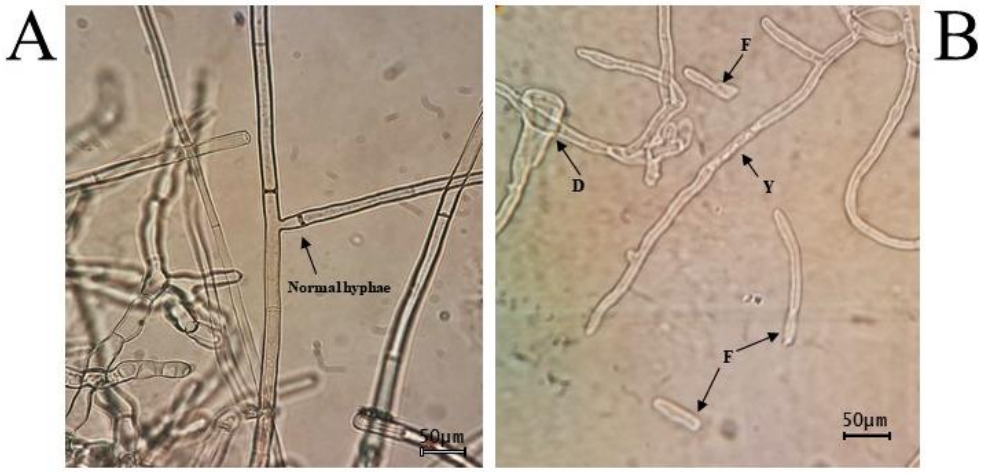


شکل ۲- فعالیت بازدارندگی رشد قارچ بیمارگر *Rhizoctonia solani* AG4 HG- II در محیط‌کشت PDA حاوی غلظت‌های مختلف پیوسیانین تولیدشده توسط *Pseudomonas aeruginosa* PA14 جهت بررسی حداقل غلظت‌بازدارنده رشد (MIC)

Figure 2- Inhibitory activity of the pathogenic fungus growth of *Rhizoctonia solani* AG4 HG- II in PDA medium containing different concentrations of pyocyanin produced by *Pseudomonas aeruginosa* PA14 to determine the minimum inhibitory concentration (MIC)

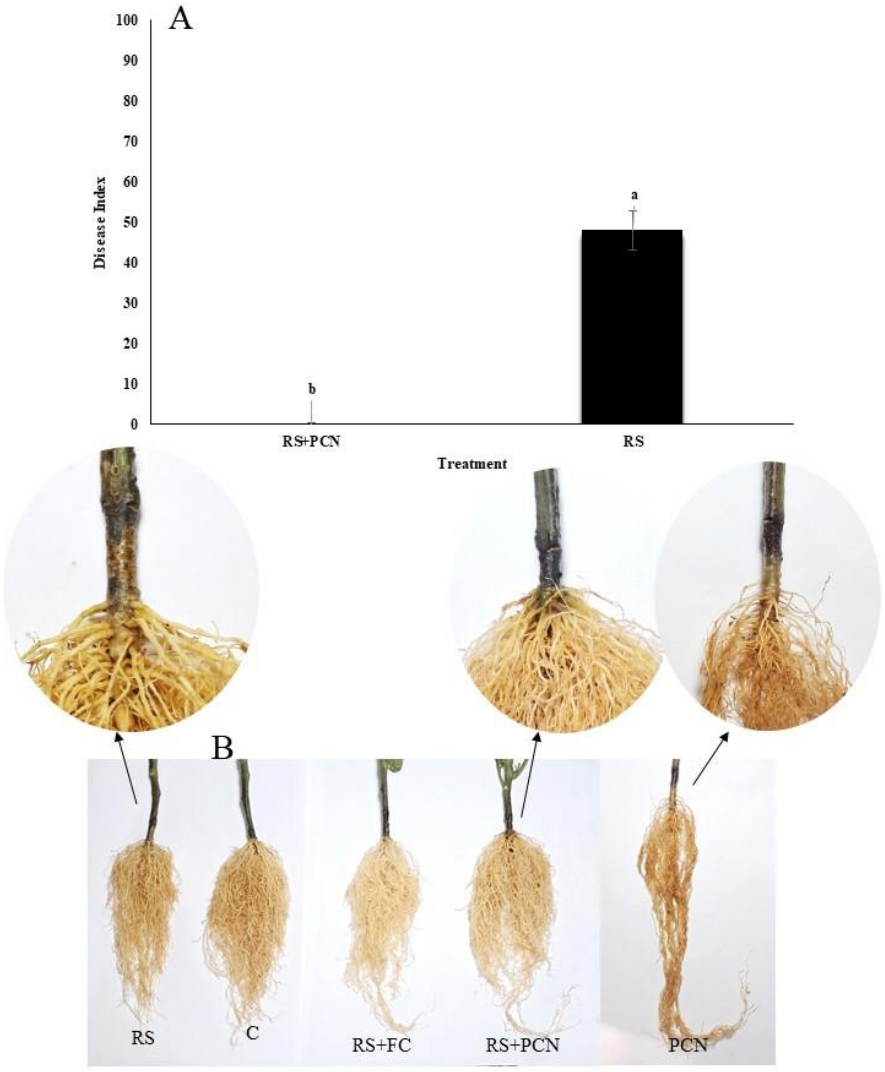
این آزمایش با سه تکرار و تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌های هر آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SPSS statistics 27 و آزمون دانکن در سطح $P< 0.05$ انجام شد.

The experiment was conducted with three replicates, and statistical analysis of the mean data from each experiment was performed using SPSS Statistics 27 software, followed by Duncan's multiple range test at $P < 0.05$.



شکل ۳- تأثیر پیوسیانین روی ریخت‌شناسی ریسه قارچ بیمارگر در کشت متقابل. ریسه قارچ *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II در تشتک‌پتری شاهد (A) و تحت تأثیر پیوسیانین تولیدشده توسط *Pseudomonas aeruginosa* PA14 (B)، F: تخریب، قطعه قطعه شدن، Y: انعقاد سیتوپلاسمی‌شده، D: تورم ریسه‌ها

Figure 3- Effect of pyocyanin on the hyphal morphology of the pathogenic fungus in dual culture. Hyphae of *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II in the control (A) and in the presence of pyocyanin produced by *Pseudomonas aeruginosa* PA14 (B). F: hyphal degradation and fragmentation; Y: cytoplasmic coagulation; D: Hyphal swelling



شکل ٤- اثر پیوسیانین تولیدشده توسط *Pseudomonas aeruginosa* PA14 روی شاخص بیماری *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II (A)، توسعه علائم بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه ناشی از *R. solani* AG4 HG-II هفت روز بعد از تلقیح قارچ بیمارگر در نهال‌های گوجه‌فرنگی (B) تیمار پیوسیانین بدون قارچ بیمارگر (PCN)، تیمار با پیوسیانین و سپس قارچ بیمارگر (RS+PCN)، شاهدمثبت حاوی قارچ‌کش ایپرودیون کاربندازیم (FC)، شاهدمنفی (C) و شاهد بیمار (RS)

Figure 4– Effect of pyocyanin produced by *Pseudomonas aeruginosa* PA14 on the disease index of *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II (A), development of root and crown rot symptoms caused by *R. solani* AG4 HG-II seven days after inoculation in tomato seedlings (B) treatments consisted of pyocyanin alone (PCN), pyocyanin followed by pathogen inoculation (RS+PCN), positive control treated with the fungicide Iprodione–carbendazim (FC), negative control (C), and pathogen-inoculated control *R. solani* only (RS)

بررسی ریسه‌های *R. solani* AG4 HG-II تحت تأثیر پیوسیانین در کشت یک‌طرفه

بررسی با میکروسکوپ نوری در کشت یک‌طرفه قارچ بیمارگر با پیوسیانین روی محیط کشت PDA هنگامی که تشتک‌پتری شاهد کاملاً با ریسه‌های قارچ بیمارگر پوشیده شد، صورت گرفت. ظاهر ریسه‌های قارچ *R. solani* AG4 HG-II در تشتک‌پتری شاهد (شکل ۳ A) طبیعی بود، امّا ریسه‌های *R. solani* AG4 HG-II در کشت یک‌طرفه با پیوسیانین (شکل ۳ B) استخراج‌شده از باکتری *P. aeruginosa* PA14 تغییر یافت. این تغییرات شامل کاهش شفافیت، تورم، تخریب، قطعه قطعه شدن و انعقاد سیتوپلاسمی در ریسه‌ها بود.

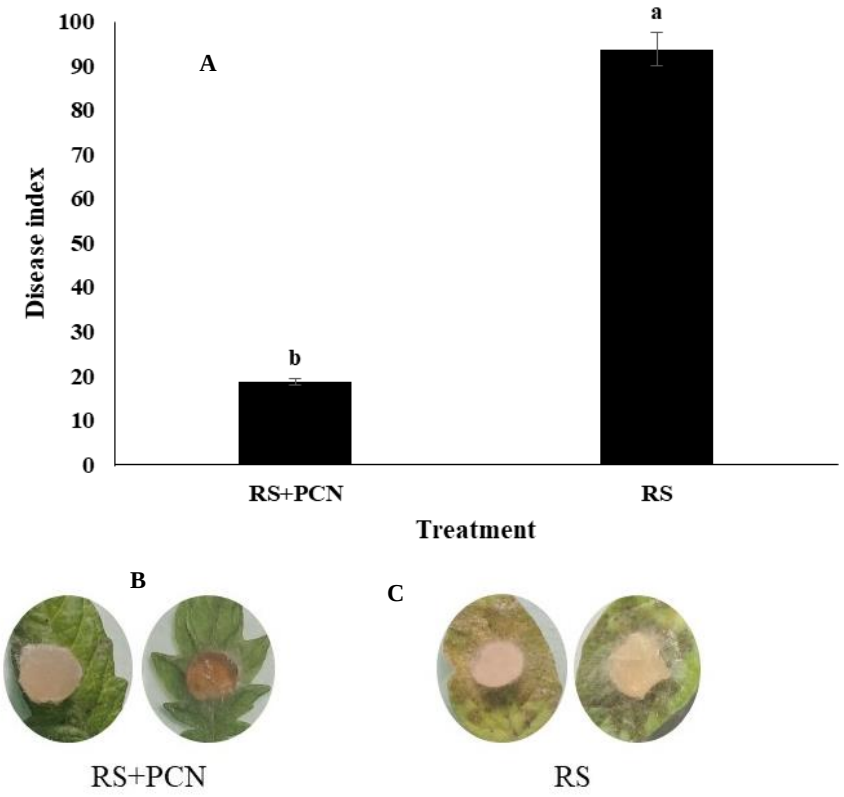
نتایج آزمون بیماری‌زایی روی نهال گوجه‌فرنگی

استفاده از پیوسیانین در نهال‌های گوجه‌فرنگی به‌طور قابل توجهی توسعه بیماری پوسیدگی ریشه ناشی از *R. solani* AG4

HG-II را در مقایسه با گیاهان شاهد و بدون پیوسیانین (شکل ۴، RS و C)، کاهش داد. پیوسیانین توانست شدت بیماری ناشی از *R. solani* را از ۴۸ درصد به کمتر از یک درصد کاهش دهد (شکل ۴، RS+PCN) که بیانگر قابلیت بالای این ترکیب در مدیریت زیستی است. به‌علاوه در شاهد مثبت که از قارچ‌کش ایپردیون کاربندازیم استفاده شد در مقایسه با تیمار پیوسیانین، علائم آلودگی مشاهده نشد، امّا اثر پیوسیانین روی توسعه ریشه مشهود است (شکل ۴، RS+FC) و اثر پیوسیانین به‌تنهایی روی طول ریشه گیاه گوجه‌فرنگی نسبت به گیاهان شاهد قابل مشاهده می‌باشد (شکل ۴، PCN).

نتایج آزمون بیماری‌زایی روی قرص‌های‌برگی

کاهش شاخص بیماری از ۹۳/۷۵ درصد در قرص‌های‌برگی شاهد به ۱۸/۷۵ درصد در قرص‌های‌برگی حاصل از نهال‌های تیمارشده با پیوسیانین نشان می‌دهد که پیوسیانین علاوه‌بر اثر مستقیم ضدقارچی، احتمالاً موجب القای مقاومت سیستمیک در نهال‌های گوجه‌فرنگی شده است. این موضوع بیانگر نقش حفاظتی پیوسیانین در افزایش مقاومت بافت‌های گیاهی در برابر *R. solani* می‌باشد (شکل ۵).



شکل ۵- اثر پیوسیانین (PCN) روی شاخص بیماری ناشی از *Rhizoctonia solani* AG4 HG- II(RS) (A) و توسعه علائم ناشی از *Rhizoctonia solani* AG4 HG- II، هفت روز بعد از تلقیح قارچ بیمارگر در قرص‌های برگی تهیه‌شده از نهال گوجه‌فرنگی تیمارشده با پیوسیانین (B) و شاهد فاقد تیمار (C)

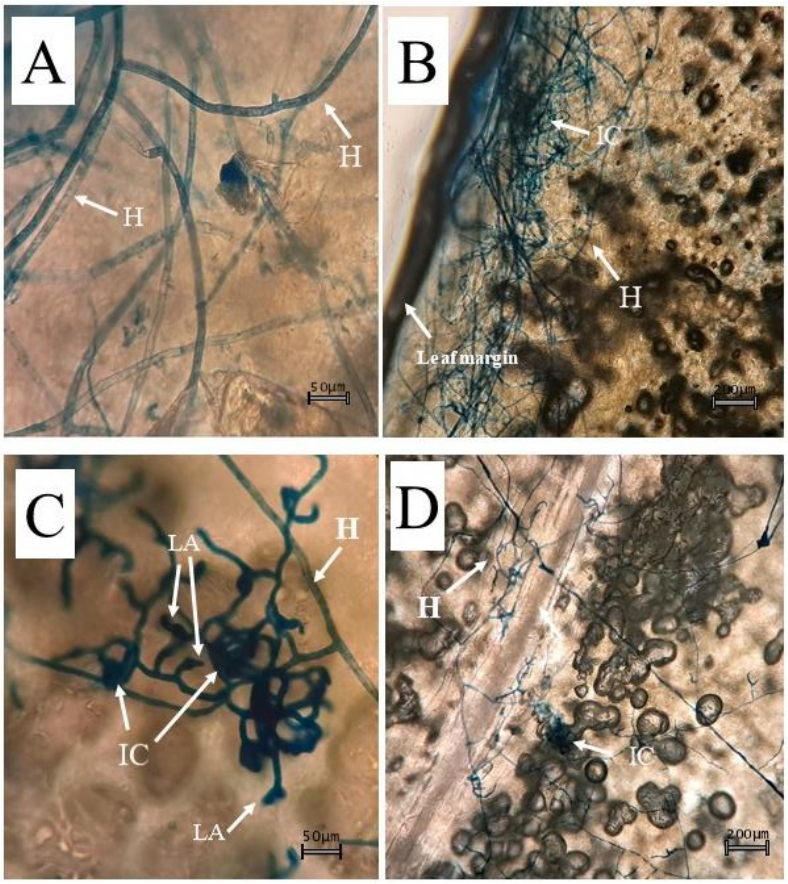
Figure 5- Effect of pyocyanin (PCN) on the disease index caused by *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II (RS) (A), and development of disease symptoms induced by *R. solani* AG4 HG-II at 7 days post-inoculation in detached leaf discs prepared from pyocyanin-treated tomato seedlings (B) and untreated control seedlings (C)

بررسی انواع ساختارهای آلوده‌کننده تشکیل‌شده توسط *R. solani* AG4 HG-II

بررسی‌های میکروسکوپی، تغییرات مورفولوژیک ریسه‌های قارچ *R. solani* AG4 HG-II را تحت تأثیر پیوسیانین استخراج‌شده از باکتری *P. aeruginosa* PA14 نشان می‌دهند. ساختارهای قارچ بیمارگر از جمله ریسه، بالشتک آلوده‌کننده[1] و آپرسوریوم‌های لوب‌دار[2]

1- Infection cushion
2- Lopat appressorium

در قرص‌های برگی شاهد که فقط با *R. solani* AG4 HG- II تلقیح شدند نسبت به قرص‌های برگی که با پیوسیانین تیمار شدند، بیش‌تر بود. ریسه‌های قارچ در سطح اپیدرم برگ گسترش یافتند و از طریق روزنه و یا از طریق کوتیکول به‌طور مستقیم وارد بافت برگ می‌شوند. در قرص‌های برگی تیمارشده فقط ریسه‌های قارچ که در حاشیه برگ قرار داشتند، مشاهده شد، درصورتی‌که در قرص‌های برگی که تیمار نشدند، علاوه‌بر ریسه، بالشتک آلوده‌کننده و آپرسوریوم لوب‌دار به‌وضوح قابل مشاهده بود (شکل ۶).



شکل ٦- بررسی میکروسکوپی میزان آلودگی توسط قارچ *Rhizoctonia solani* AG4 HG- II روی برگ‌های گوجه‌فرنگی به‌روش قرص برگی. نفوذ ریسه قارچ به برگ و تجمع ریسه‌ها در حاشیه برگ‌های تیمارشده با پیوسیانین (A, B) و وجود ساختارهای کامل ریسه‌های قارچ و پراکندگی در سطح برگ شاهد (C, D)، H: ریسه قارچ، IC: بالشتک آلوده‌کننده، LA: آپرسوریوم لوب‌دار

Figure 6 – Microscopic analysis of infection level by *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II on tomato leaves using the leaf disc method. penetration of fungal hyphae into the leaf and accumulation of hyphae at the margins of pyocyanin -treated leaves (A, B), and the presence of fully developed fungal hyphal structures and widespread distribution on the surface of untreated leaves (C, D), H: fungal hyphae, IC: infection cushion, LA: **lopat appressorium**

بحث

این مطالعه به بررسی اثر پیوسیانین استخراج‌شده از سویه *Pseudomonas aeruginosa* PA14 در مدیریت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه گوجه‌فرنگی ناشی از *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II پرداخت. نتایج آزمایش‌های کشت یک‌طرفه در تشتک‌پتری نشان داد که پیوسیانین توانست رشد قارچ را به‌طور مؤثر مهار کند، به‌طوری‌که در تمام پتری‌ها، هاله‌بازدارنده ایجاد و قطر پرگنه قارچ کاهش یافت. این نتایج نشان‌دهنده خاصیت آنتاگونیستی قوی پیوسیانین علیه عامل بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه است. مطالعات پیشین نیز به اثربخشی ضدقارچی پیوسیانین اشاره کرده‌اند. به‌عنوان مثال، حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) پیوسیانین برای قارچ *Sclerotium rolfsii* برابر با ۲۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد و توانایی این ترکیب در مهار رشد قارچ‌های *Aspergillus niger*، *Fusarium oxysporum* و *Colletotrichum falcatum* نشان داده شد (Allen et al., 2005). همچنین سویه *P.*

aeruginosa WS1 با تولید پیوسیانین، فعالیت ضدقارچی نشان داد و MICاین ترکیب برای قارچ‌های *A. flavus* و *A. fumigatus* ۶۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر و برای *Candida* sp. ۱۲۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شد (Sudhakar & Karpagam, 2011). تفاوت در MICهای گزارش‌شده می‌تواند ناشی از روش‌های متفاوت استخراج، محیط‌کشت و سویه‌های مختلف قارچ‌ها باشد (Hamad et al., 2020). بررسی‌های میکروسکوپی نشان داد که حضور پیوسیانین باعث بروز تغییرات ساختاری قابل توجهی در ریسه‌های قارچ از جمله تورم، قطعه قطعه شدن ریسه‌ها و انعقاد سیتوپلاسمی شد. این یافته‌ها با گزارش‌های پیشین در مورد ترکیبات فرار تولیدشده توسط *Pseudomonas* spp. مطابقت دارد که موجب تغییرات ساختاری در ریسه‌های *R. solani* و اختلال در ساختارهای بیماری‌زای قارچ شدند (Elkahoui et al., 2015). در گزارشی دیگر، پیوسیانین حاصل از *P. aeruginosa* باعث مهار رشد قارچ *F. graminearum* شد که این مهار از طریق تضعیف مسیرهای مقاومت بیمارگر ایجاد شد و به کاهش تولید مایکوتوکسین‌ها کمک کرد (Houshaymi et al., 2019). پیوسیانین و سایر عوامل ضدقارچی حاصل از *P. aeruginosa* QY43 نشان داد ظرفیت قابل توجهی در مهار قارچ‌های *F. pseudograminearum*، *F. graminearum* و *Magnaporthe oryzae* در برنج و گندم (*Triticum aestivum* L.) داشت (Meng et al., 2024). متابولیت‌های *Pseudomonas* spp. مانند رامنولیپیدها و فنازین‌ها باعث افزایش القای مقاومت سیستمیک در گیاهان شدند (Zhang et al., 2023). علاوه‌بر این، پیوسیانین با اثرات مستقیم خود بر ساختار قارچ و مهار رشد آن، نقش مهمی در فعال‌سازی سیستم ایمنی گیاه ایفا می‌کند (Audenaert et al., 2002). مطالعات نشان‌داده‌اند که فنازین‌ها می‌توانند مسیرهای سیگنالینگ دفاعی مانند مسیر اسیدسالیسیلیک و اتیلن را تحریک کنند که این امر منجر به افزایش مقاومت سیستمیک القاشده (ISR) در گیاهان می‌شود (Pierson & Pierson, 2010). این سازوکارها از طریق افزایش تولید پروتئین‌های مرتبط با دفاع، آنزیم‌های ضد اکسیداسیون و ترکیبات فنولی، توانایی گیاه را در مقابله با بیمارگرها افزایش می‌دهند (Thomashow, 2013). به این ترتیب، اثر دوگانه پیوسیانین هم به‌صورت مستقیم روی بیمارگر و هم به‌عنوان محرک دفاع گیاهی، ارزش بالایی برای کاربردهای کشاورزی پایدار فراهم می‌کند. از سوی دیگر، استفاده از متابولیت‌های میکروبی مانند پیوسیانین می‌تواند بخشی از راهبردهای مدیریت زیستی چندجانبه باشد که هم‌زمان موجب بهبود کیفیت خاک و افزایش تنوع میکروبی می‌شود (Pieterse et al., 2014). تحقیقات نشان داده‌اند که حضور باکتری‌های تولیدکننده فنازین باعث ارتقای فعالیت آنزیمی خاک و تقویت ریزموجودات مفید می‌شود که در نهایت رشد و سلامت گیاه را بهبود می‌بخشد (Mavrodi et al., 2025). بنابراین، کاربرد پیوسیانین علاوه‌بر مدیریت بیماری، می‌تواند به‌عنوان محرکی برای افزایش پایداری بوم‌نظام‌های زراعی به شمار رود. با توجه به مشکلات زیست‌محیطی و اقتصادی ناشی از مصرف گسترده قارچ‌کش‌های شیمیایی، توسعه و به‌کارگیری عوامل مدیریت زیستی مانند پیوسیانین ضروری است. این ترکیب به‌دلیل اثرات قوی ضدقارچی، سمیت پایین برای موجودات غیرهدف و توانایی تحریک سیستم دفاعی گیاه، گزینه‌ای ایده‌آل برای کشاورزی پایدار محسوب می‌شود. بااین‌حال، برای استفاده گسترده‌تر و تضمین عملکرد در شرایط مزرعه، تحقیقات بیشتری در زمینه بهینه‌سازی فرمولاسیون، روش‌های کاربرد و تعامل با سایر ریزجانداران خاک نیاز است (Raaijmakers & Mazzola, 2012). در مجموع، نتایج این تحقیق تأکید می‌کند که پیوسیانین استخراج‌شده از *P. aeruginosa* PA14 با خاصیت ضدقارچی قوی و توانایی بهبود پارامترهای رشدی و مقاومت گیاه، گزینه‌ای مؤثر و زیست‌سازگار برای مدیریت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه گوجه‌فرنگی است.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که پیوسیانین استخراج‌شده از *Pseudomonas aeruginosa* PA14 سبب کاهش چشمگیر رشد قارچ بیماری‌زای *Rhizoctonia solani* AG4 HG-II و کاهش معنی‌دار شاخص بیماری این بیمارگر در آزمایشگاه و گلخانه می‌شود و با ایجاد تغییرات ریخت‌شناختی در ریسه‌های قارچ، فرآیند آلودگی گیاه گوجه‌فرنگی را مختل می‌کند. این یافته‌ها، اهمیت استفاده از متابولیت‌های‌ثانویه میکروبی از جمله پیوسیانین به‌عنوان جایگزین‌های زیست‌سازگار و پایدار برای مدیریت بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه‌فرنگی و سایر گیاهان را برجسته می‌سازد. همچنین کاربرد این ترکیب می‌تواند به کاهش مصرف قارچ‌کش‌های شیمیایی و حفاظت از محیط‌زیست کمک کند. ازاین‌رو، تحقیقات بیشتر در شرایط مزرعه و بررسی سازوکارهای دقیق اثر پیوسیانین توصیه می‌شود تا امکان استفاده گسترده‌تر و مؤثرتر آن فراهم گردد.

سپاسگزاری

این تحقیق بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول تحت حمایت دانشگاه فردوسی مشهد به شماره طرح ۶۰۹۵۳/۳ بود.

References

1. Abdelaziz, A. A., Kamer, A. M. A., Al-Monofy, K. B., & Al-Madboly, L. A. (2023). *Pseudomonas aeruginosa's* greenish-blue pigment pyocyanin: Its production and biological activities. *Microbial Cell Factories*, *22*(1), 110. https://doi.org/10.1186/s12934-023-02122-1
2. Abdul-Hussein, Z., & Atia, S. (2016). Antimicrobial effect of pyocyanin extracted from *Pseudomonas aeruginosa*. *European Journal of Experimental Biology*, *6*(3), 1-4.
3. Agarwal, H., Bajpai, S., Mishra, A., Kohli, I., Varma, A., Fouillaud, M., Dufossé, L., & Joshi, N. C. (2023). Bacterial pigments and their multifaceted roles in contemporary biotechnology and pharmacological applications. *Microorganisms*, *11*(3), 614. https://www.mdpi.com/2076-2607/11/3/614
4. Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology*. Elsevier. https://doi.org/10.1016/C2009-0-02037-6
5. Allen, L., Dockrell, D. H., Pattery, T., Lee, D. G., Cornelis, P., Hellewell, P. G., & Whyte, M. K. (2005). Pyocyanin production by *Pseudomonas aeruginosa* induces neutrophil apoptosis and impairs neutrophil-mediated host defenses *in vivo*. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *174*(6), 3643-3649. https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.6.3643
6. Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. J*ournal of Antimicrobial Chemotherapy*, *48*(suppl_1), 5-16. https://doi.org/10.1093/jac/48.suppl_1.5
7. Audenaert, K., Pattery, T., Cornelis, P., & Höfte, M. (2002). Induction of systemic resistance to *Botrytis cinerea* in tomato by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2: Role of salicylic acid, pyochelin, and pyocyanin. *Molecular Plant-Microbe Interactions : MPMI*, *15*, 1147-1156. https://doi.org/10.1094/MPMI.2002.15.11.1147
8. Daroodi, Z., Taheri, P., & Tarighi, S. (2022). Effect of tomato seed coating with spores of the endophytic fungus *Acrophialophora jodhpurensis* on plant growth and control of crown and root rot caused by *Rhizoctonia solani*. *Biological Control of Pests and Plant Diseases*, *11*(2), 95-113. (in Persian) https://doi.org/10.22059/jbioc.2024.371151.329
9. De Vleesschauwer, D., Cornelis, P., & Höfte, M. (2007). Redox-active pyocyanin secreted by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 triggers systemic resistance to *Magnaporthe grisea* but enhances *Rhizoctonia solani* susceptibility in rice. *Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI*, *19*, 1406-1419. https://doi.org/10.1094/MPMI-19-1406
10. DeBritto, S., Gajbar, T. D., Satapute, P., Sundaram, L., Lakshmikantha, R. Y., Jogaiah, S., & Ito, S. I. (2020). Isolation and characterization of nutrient dependent pyocyanin from *Pseudomonas aeruginosa* and its dye and agrochemical properties. *Scientific Reports*, *10*(1), 1542. https://doi.org/10.1038/s41598-020-58335-6
11. Eilenberg, J., Hajek, A., Lomer, C. (2001). Suggestions for unifying the terminology in biological control. BioControl. *BioControl*, *46*, 387-400. https://doi.org/10.1023/A:1014193329979
12. El-Fouly, M. Z., Sharaf, A. M., Shahin, A. A. M., El-Bialy, H. A., & Omara, A. M. A. (2015). Biosynthesis of pyocyanin pigment by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, *8*(1), 36-48. https://doi.org/10.1016/j.jrras.2014.10.007
13. Elkahoui, S., Djébali, N., Yaich, N., Azaiez, S., Hammami, M., Essid, R., & Limam, F. (2015). Antifungal activity of volatile compounds-producing *Pseudomonas* P2 strain against *Rhizoctonia solani*. *World journal of microbiology & biotechnology*, *31*(1), 175-185. https://doi.org/10.1007/s11274-014-1772-3
14. Emad, S., & Alsalim, H. (2017). Assessment of pyocyanin activity produced by *Pseudomonas aeruginosa* against *Rhizoctonia solani* and *Macrophomina phaseolina*. *Current Research in Microbiology and Biotechnology*, *5(5), 1250-1253*.
15. Feghali, P., & Na'was, T. (2018). Extraction and purification of pyocyanin: A simpler and more reliable method. *MedCrave Online Journal of Toxicology*, *4*, 417-422. https://doi.org/10.15406/mojt.2018.04.00139
16. Gahlout, M., Prajapati, H., Chauhan, P., Patel, N., & Solanki, D. (2017). Isolation and screening of pyocyanin producing *Pseudomonas* spp. from soil. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences (IJARBS)*, *4*, 147-152. https://doi.org/10.22192/ijarbs.2017.04.04.020
17. Halifu, S., Deng, X., Song, X., & Song, R. (2019). Effects of two *Trichoderma* strains on plant growth, rhizosphere soil nutrients, and fungal community of *Pinus sylvestris* var. mongolica annual seedlings. *Forests*, *10*(9), 758. ttps://doi.org/10.3390/f10090758
18. Hamad, M. N., Marrez, D. A., & El-Sherbieny, S. M. (2020). Toxicity evaluation and antimicrobial activity of purified pyocyanin from *Pseudomonas aeruginosa*. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, *10*(6), 6974-699. https://doi.org/10.33263/BRIAC106.69746990
19. Houshaymi, B., Awada, R., Kedees, M., & Soayfane, Z. (2019). Pyocyanin, a metabolite of *Pseudomonas aeruginosa*, exhibits antifungal drug activity through inhibition of a pleiotropic drug resistance subfamily FgABC3. *Drug Research*, *69*(12), 658-664. https://doi.org/10.1055/a-0929-4380
20. Islam, M. A., Nain, Z., Alam, M. K., Banu, N. A., & Islam, M. R. (2018). *In vitro* study of biocontrol potential of rhizospheric *Pseudomonas aeruginosa* against *Fusarium oxysporum* f. sp. cucumerinum. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, *28*(1), 90. https://doi.org/10.1186/s41938-018-0097-1

21. Khokhar, H., & Sharma, C. (2024). Safeguarding Tomato Cultivation: Challenges and Integrated Pest Management Strategies in North India. BIO Web of Conferences, 110. https://doi.org/10.1051/bioconf/202411001009
22. Lau, G. W., Ran, H., Kong, F., Hassett, D. J., & Mavrodi, D. (2004). *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin is critical for lung infection in mice. *Infection and Immunity*, *72*(7), 4275-4278. https://doi.org/10.1128/iai.72.7.4275-4278.2004
23. Mahmoud, S. Y., Ziedan, E. S. H., Farrag, E. S., Kalafalla, R. S., & Ali, A. M. (2016). Antifungal activity of pyocyanin produced by *Pseudomonas aeruginosa* against *Fusarium oxysporum* Schlech phytopathogenic fungi. *International Journal of PharmTech Research*, *9*, 43-50.
24. Maurya, S., Prakash, P., & Bairy, I. (2011). A simplified touch tape preparation from tube cultures for microscopic examination of filamentous fungi. *Journal of Microbiological Methods*, *86*, 128-129. https//:doi.org/10.1016/j.mimet.2011.04.015
25. Mavrodi, D. V., Blankenfeldt, W., Mavrodi, O. V., Weller, D. M., & Thomashow, L. S. (2025). Microbial phenazines: Biosynthesis, structural diversity, evolution, regulation, and biological significance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, e00147-00123. https://doi.org/10.1128/mmbr.00147-23
26. Meng, J., Zan, F., Liu, Z., Zhang, Y., Qin, C., Hao, L., Wang, Z., Wang, L., Liu, D., Liang, S., Li, H., Li, H., & Ding, S. (2024). Genomics analysis reveals the potential biocontrol mechanism of *Pseudomonas aeruginosa* QY43 against *Fusarium pseudograminearum*. *Journal of Fungi*, *10*(4), 298. https://doi.org/10.3390/jof10040298
27. Moayedi, A., Nowroozi, J., & Sepahy, A. A. (2017). Effect of fetal and adult bovine serum on development of pyocyanin production in clinical and soil isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, *20*(12), 1331-1338. (in Persian) https://www.magiran.com/paper/1760714
28. Mohseni, A., & Shariat, A. (2021). Evaluation of *in vitro* effect of pyocyanine pigment on interleukin-2 secretion from peripheral blood mononuclear cells in cancer patients [original research article]. *Iranian Journal of Medical Microbiology*, *15*(3), 327-344. (in Persian).
29. Nikraftar, F., Taheri, P., Rastegar, M., & Tarighi, S. (2013). Tomato partial resistance to *Rhizoctonia solani* involves antioxidative defense mechanisms. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, *81*, 74-83. https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2012.11.004
30. Nikraftar, F. , Taheri, P., & Tarighi, S. (2016). The possibility of inducing resistance in tomato against *Rhizoctonia solani* and some of its mechanisms. *Journal of Iranian Plant Protection Research*, *30*(3), 441-448. (in Persian) https://doi.org/10.22067/jpp.v30i3.44805
31. Noori, M., & Mohd Saud, H. (2012). Potential plant growth-promoting activity of *Pseudomonas* sp. isolated from paddy soil in Malaysia as biocontrol agent. *Journal of Plant Pathology & Microbiology*, *3(2), 1-4.*
32. Paulitz, T. C., & Bélanger, R. R. (2001). Biological control in greenhouse systems. *Annual review of phytopathology*, *39*, 103-133. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.39.1.103
33. Pierson III, L. S., & Pierson, E .A. (2010). Metabolism and function of phenazines in bacteria: impacts on the behavior of bacteria in the environment and biotechnological processes. *Applied microbiology and biotechnology*, *86*(6), 1659-1670. https://doi.org/10.1007/s00253-010-2509-3
34. Pieterse, C. M., Zamioudis, C., Berendsen, R. L., Weller, D. M., Van Wees, S. C., & Bakker, P. A. (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. Annu*al Review of Phytopathology*, *52*(1), 347-375. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102340
35. Pourmahdi, A., & Taheri, P. (2015). Genetic diversity of T hanatephorus cucumeris infecting tomato in Iran. *Journal of Phytopathology*, *163*(1), 19-32. https://doi.org/10.1111/jph.12276
36. Raaijmakers, J. M., & Mazzola, M. (2012). Diversity and natural functions of antibiotics produced by beneficial and plant pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, *50*(1), 403-424. https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-081211-172908
37. Salim, M. M. R., Rashid, M. H., Hossain, M. M., & Zakaria, M. (2020). Morphological characterization of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) genotypes. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, *19*(3), 233-240. https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.11.001
38. Sánchez-Fernández, R. E., Diaz, D., Duarte, G., Lappe-Oliveras, P., Sánchez, S., & Macías-Rubalcava, M. L. (2016). Antifungal volatile organic compounds from the endophyte *Nodulisporium* sp. strain GS4d2II1a: A qualitative change in the intraspecific and interspecific interactions with *Pythium aphanidermatum*. *Microbial Ecology*, *71*(2), 347-364. https://doi.org/10.1007/s00248-015-0679-3
39. Selim, H. M., Gomaa, N. M., & Essa, A. (2016). Antagonistic effect of endophytic bacteria against some phytopathogens. *Egyptian Journal of Botany*, *1*, 74-81.
40. Sindhu, S. S., Sehrawat, A., Sharma, R., & Dahiya, A. (2016). Biopesticides: Use of rhizosphere bacteria for biological control of plant pathogens. *Strain*, *90*, 166.

41. Solanki, M. K., Robert, A .S., Singh, R. K., Kumar, S., Pandey, A. K., Srivastava, A. K., & Arora, D. K. (2012). Characterization of mycolytic enzymes of *Bacillus* strains and their bio-protection role against *Rhizoctonia solani* in tomato. *Current Microbiology*, *65*(3), 330-336. https://doi.org/10.1007/s00284-012-0160-1
42. Sudhakar, T., & Karpagam, S. (2011). Antifungal efficacy of pyocyanin produced from bioindicators of nosocomial hazards. International Conference on Green technology and environmental Conservation (GTEC-2011) (pp. 224-229). IEEE.
43. Sudhakar, T., Karpagam, S., & Sabapathy Shiyama, S. S. (2013). Analysis of pyocyanin compound and its antagonistic activity against phytopathogens. *International Journal of ChemTech Research*, *5*(3), 1101-1106.
44. Sun, Y., Dong, W., Sun, L., Ma, L., & Shang, D. (2015). Insights into the membrane interaction mechanism and antibacterial properties of chensinin-1b. *Biomaterials*, *37*, 299-311. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.10.041
45. Taheri, P., Gnanamanickam, S., & Höfte, M. (2007). Characterization, genetic structure, and pathogenicity of *Rhizoctonia* spp. associated with rice sheath diseases in India. *Phytopathology*, *97*(3), 373-383. https://doi.org/10.1094/phyto-97-3-0373
46. Taylor, I. (1986). Biosystematics of the tomato. In *The Tomato Crop: A Scientific Basis for Improvement*. Springer. pp. 1-34. https://doi.org/10.1007/978-94-009-3137-4_1
47. Thomashow, L. S. (2013). Phenazines in the environment: Microbes, habitats, and ecological relevance. In *Microbial Phenazines: Biosynthesis, Agriculture and Health.* Springer. pp. 199-216. https://doi.org/10.1007/978-3-642-40573-0_10
48. Tjamos, E. C., Beckman, C. H., & & Paplomatas, E. J. (2013). *Rhizoctonia* diseases of vegetables: Biology, diagnosis and management. *Agarwal, 2010*.
49. Wen, K., Seguin, P., St.-Arnaud, M., & Jabaji-Hare, S. (2005). Real-time quantitative RT-PCR of defense-associated gene transcripts of *Rhizoctonia solani*-infected bean seedlings in response to inoculation with a nonpathogenic binucleate *Rhizoctonia* isolate. *Phytopathology*, *95*(4), 345-353. https://doi.org/10.1094/phyto-95-0345
50. Wikifarmer. (2024). Deep dive in tomato prices: A comprehensive price study 2024-2025. Retrieved December 19, 2025, from https://wikifarmer.com/library/en/article/deep-dive-in-tomato-prices-a-comprehensive-price-study-2024-2025?utm_source=chatgpt.com
51. Wu, W., Jin, Y., Bai, F., & Jin, S. (2015). *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecular Medical Microbiology.* Elsevier. pp. 753-767. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00041-X
52. Zhang, L., Zuluaga, M. Y. A., Pii, Y., Barone, A., Amaducci, S., Miras-Moreno, B., Martinelli, E., Bellotti, G., Trevisan, M., & Puglisi, E. (2023). A *Pseudomonas* plant growth promoting *Rhizobacterium* and arbuscular mycorrhiza differentially modulate the growth, photosynthetic performance, nutrients allocation, and stress response mechanisms triggered by a mild Zinc and Cadmium stress in tomato. *Plant Science*, *337*, 111873. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2023.111873