Archive of SID

Crop Biotech.
Spring (2019) 25:19-33. DOI:10.30473/CB.2019.43198.1757

مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌فناوری گیاهان زراعی
سال هشتم، شماره بیست‌وپنجم، بهار ۱۳۹۸ (۳۳-۱۹)

برهمکنش باکتری‌های *Bacillus amyloliquefaciens* و *Azospirillum oryzae* در تحریک رشد گیاه گندم و کاهش بیماری‌زایی قارچ *Fusarium graminearum*

نگار باقری[۱]، مسعود احمدزاده[۲]*، غلامرضا صالحی‌جوزانی[۳]

۱. دانشجوی دکتری، گروه گیاهپزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲. استاد، گروه گیاهپزشکی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۳. استاد، بخش تحقیقات بیوتکنولوژی میکروبی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRII)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۶/۲ – تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۱/۱۹)

Interaction of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Azospirillum oryzae* on wheat growth promotion and *Fusarium graminearum* disease inhibition

Negar Bagheri[1], Masoud Ahmadzadeh[2], Gholamreza Salehi Jouzani[3]

1. Ph.D. Candidate, Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

2. Professor of Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

3. Professor of Microbial Biotechnology Department, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

(Received: Aug. 24, 2018 - Accepted: Apr. 8, 2019)

چکیده

تلقیح توام ریزوباکتری‌های افزاینده رشد گیاه و عوامل کنترل زیستی آفات و بیماری‌ها، رویکردی در مدیریت سلامت و بهبود تولید و کیفیت محصولات کشاورزی می‌باشد. در این تحقیق به مطالعه اثرات متقابل دو سویه باکتریایی *Bacillus amyloliquefaciens* UTB96 و *Azospirillum oryzae* NBT506 در تحریک رشد گیاه گندم و بازدارندگی قارچ *Fusarium graminearum* (عامل بلایت خوشه و پوسیدگی طوقه گندم) در دو حالت کشت منفرد و هم‌کشتی پرداخته شد. نتایج نشان داد که باکتری‌ها در کشت منفرد و هم‌کشتی بخوبی از رشد قارچ بیماری‌زا به‌صورت مستقیم و با ترکیبات فرار جلوگیری کردند و این نتایج در شرایط اتاقک رشد هم مشاهده شد که هم‌کشتی دو سویه به شدت باعث افزایش شاخص‌های رشدی گیاه و کاهش خسارت و علائم بیماری نسبت به شاهد شد. بهترین تیمارهای باکتری‌ها در حالت محلول‌پاشی در سطح خاک بودند. در محلول‌پاشی سطح خاک با این عوامل میکروبی، طول ریشه ۸۰-۱۴ درصد، وزن تر ریشه ۱۶۷-۱۸ درصد، وزن خشک ریشه ۱۱۰-۴ درصد، طول ساقه ۶۱-۱۷ درصد، وزن تر ساقه ۱۶۹-۴۷ درصد و وزن خشک ساقه ۹۰-۰/۴ درصد افزایش را نشان دادند همچنین درصد کاهش شاخص بیماری نیز ۱۰۰- ۶۲ درصد در تیمارهای مختلف برآورد شد. به‌طور کلی هم‌کشتی دو باکتری اثرات هم‌افزایی در افزایش رشد گندم و کاهش رشد قارچ بیمارگر نشان داد.

واژه‌های کلیدی: اثر هم‌افزایی، کنترل زیستی، هم‌کشتی، *Bacillus amyloliquefaciens*، *Azospirillum oryzae*

Abstract

Co-inoculation of plant growth promoting bacteria and biological control agents, is a strategy to improve health, yield and quality of crop production. The objective of the present study was to evaluate interactions of two bacterial strains, *Bacillus amyloliquefaciens* UTB96 and *Azospirillum oryzae* NBT506, on growth promotion of wheat and control of the causal agent of *Fusarium* head blight, *Fusarium graminearum*. The results showed that single and co-culture of these strains inhibit mycelium growth of *F. graminearum* by direct inhibition and volatile organic compounds. In germinator assays, different wheat growth features were increased and disease index was decreased. Results showed that co-inoculation or single application of the bacteria in the soil significantly enhanced root length (14-80%), root fresh weight (18-167%), root dry weight (4-110%,), shoot length (17-61%), shoot fresh weight (47-169%) and shoot dry weight (up to 90%). In addition, a significant decrease in disease index (62-100%) was observed in different single and co-culture treatments. In conclusion, the studied two bacterial strains showed synergistic effects on wheat growth promotion and fungal growth inhibition.

Keywords: *Azospirillum oryzae*, *Bacillus amyloliquefaciens*, Biological control, Interaction, Synergistic effect.

* نویسنده مسئول: مسعود احمدزاده

E-mail: ahmadz@ut.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

گندم (*Triticum* spp.) به‌عنوان مهم‌ترین گیاه زراعی مورد استفاده انسان، در سطح جهانی با سطح زیر کشت بیش از ۲۱۵ میلیون هکتار و تولید بیش از ۷۵۰ میلیون تن در سال در سطح وسیعی از زمین‌های کشاورزی دنیا و حتی در نواحی خشک کشت می‌شود (CGIAR, 2018). در ایران نیز این گیاه به‌عنوان مهمترین و راهبردی‌ترین محصول کشاورزی شناخته می‌شود. سطح زیر کشت گندم در ایران حدود ۶ میلیون هکتار با تولید سالانه حدود ۱۲/۵ میلیون تن است. از طرفی نیاز سالانه کشور به گندم حدود ۱۴ میلیون تن است (Ahmadi *et al.*, 2017). تولید گندم به‌شدت تحت تأثیر عوامل زنده و غیرزنده بوده و در نتیجه اثرات آن‌ها عملکرد این گیاه به شدت کاهش می‌یابد. تاکنون حدود ۲۰۰ بیماری در گندم گزارش شده است که ۵۰ بیماری از آن‌ها باعث خسارت اقتصادی در مناطق و اقلیم‌های متفاوت می‌شوند (Wiese *et al.*, 2000). در میان پاتوژن‌های گندم، قارچ‌ها مهم‌ترین و معمول‌ترین عوامل بیماری‌زا و خسارت‌زا هستند (Bockus *et al.*, 2010). در میان بیماری‌های قارچی، بلایت فوزاریومی خوشه (FHB) و پوسیدگی فوزاریومی طوقه (FCR)، به‌عنوان دو بیماری مهم خسارت‌زای غلات هستند و در بیشتر مناطق دنیا وجود دارند (Fernandez *et al.*, 2009). دو گونه *Fusarium graminearum* و *Fusarium pseudograminearum* عامل بلایت خوشه و پوسیدگی طوقه و ریشه گندم هستند که علاوه بر FHB به CR معروف است و همچنین باعث تجمع مایکوتوکسین در دانه گندم می‌شوند (Chakraborty *et al.*, 2010). شدت خسارت CR در این دو گونه مساوی ارزیابی شده است (Akinsanmi *et al.*, 2004). لذا یافت راهکارهای مناسب و موثر کنترل این عوامل بیمارگر می‌توانند نقش بسزایی در دستیابی و حفظ خودکفایی در تولید گندم داشته باشد.

روش‌های توسعه یافته برای کنترل آلودگی‌های فوزاریومی غلات شامل روش‌های به‌زراعی، استفاده از ارقام مقاوم و قارچکش‌ها است. استفاده از قارچکش‌ها منجر به آلودگی محیط زیست و به خطر افتادن سلام انسان و سایر موجودات شده و از طرفی عمدتا دارای کارایی پایینی در کنترل این عوامل بیمارگر هستند. بنابراین محققین به سمت توسعه و استفاده از روش‌های محیط زیست دوستانه و موثر دیگر به‌عنوان مدیریت تلفیقی فوزاریوم‌ها سوق داده شده‌اند. استفاده از مهارگرهای زیستی (کنترل زیستی) یکی از مهم‌ترین روش‌های مورد استفاده در مدیریت تلفیقی بیماری‌های قارچی می‌باشد (Grosu *et al.*, 2015). نحوه اثر عوامل کنترل زیستی به دو صورت اثرگذاری مستقیم و غیرمستقیم تقسیم می‌شود؛ مکانیسم‌های مستقیم شامل تولید سیدروفور، ترشح ترکیبات ضدمیکروبی یا تولید آنزیم‌های تجزیه‌گر و سمی می‌باشد (Compant *et al.*, 2005). در مقابل، مکانیسم‌های غیرمستقیم بیشتر شامل افزایش مقاومت گیاهان است که از طریق دو مسیر مقاومت اکتسابی (SAR) و مقاومت القایی (ISR) صورت می‌گیرد (Doornbos *et al.*, 2012).

برخی گونه‌های جنس *Bacillus* از قبیل *B. subtilis* و *B. amyloliquefaciens* که باکتری‌های گرم مثبت و اسپورزا هستند، دارای فعالیت آنتاگونیستی علیه قارچ‌های بیمارگرهای گیاهی هستند. علاوه بر این، گونه‌های *Bacillus* به‌دلیل تولید اسپورهای مقاوم به شرایط نامساعد محیطی از قبیل خشکی و حرارت برای تجاری‌سازی مناسب هستند و به‌راحتی می‌توانند در غالب محصول پایدار فرموله و به‌عنوان محافظت از استرس‌های محیطی به‌کار روند (Perez-Garcia *et al.*, 2011).

باکتری‌های جنس *Azospirillum* که گرم منفی، هوازی و آزادزی در خاک هستند نیز قادرند ریشه‌های بسیاری از محصولات مهم اقتصادی از جمله گندم، برنج و ذرت را کلونیزه کنند و موجب

www.SID.ir

Archive of SID

افزایش رشد این قبیل محصولات شوند (Wasim, 2006). *Azospirillum* ریزوباکتری محرک رشد گیاه (PGPR) و دارای خواص مفیدی برای گیاهان است که از آن جمله می‌توان به تثبیت ازت، تولید ACC deaminase، هورمون‌های گیاهی و سایر تنظیم کننده‌های رشد گیاه مانند اکسین، سیتوکینین، جیبرلین، اسیدآبسیزیک و نیتریک اکسید و قابلیت کنترل بیمارگرهای گیاهی اشاره کرد (Combes-Meynet *et al.*, 2011; Castillo *et al.*, 2015). برخی از مکانیسم‌هایی که توسط این باکتری برای کاهش خسارت بیمارگرها به‌کار می‌رود، شامل رقابت محیطی و جایگزینی با بیمارگر، ممانعت از جوانه‌زنی بذور علف‌های هرز، افزایش عمومی مقاومت گیاه به آلودگی‌های پاتوژن و امکان ممانعت از رشد قارچ‌ها با تولید مواد سمی میکروبی است. این باکتری یک باکتری آزادزی افزاینده رشد گیاه است که رشد و محصول تعداد زیادی از گونه‌های گیاهی را تحت تأثیر قرار داده و اثرات اکولوژیکی و اقتصادی زیادی دارد (Bashan and de-Bashan, 2010).

تلقیح توام ریزوباکتری‌های افزاینده رشد گیاه و عوامل کنترل زیستی بیمارگرهای گیاهی، یک رویکرد جدید در مدیریت سلامت و بهبود تولید و کیفیت محصولات کشاورزی می‌باشد (Marimuthu *et al.*, 2002). قارچ‌ها و باکتری‌ها آنتاگونیست روی قارچ‌های جنس فوزاریوم به‌طور مستقیم، مخلوطی از مسیرها و نقطع اثر غیرمستقیم تأثیر می‌گذارند (Wachowska *et al.*, 2017). در ترکیب میکروارگانیسم‌ها با توانایی متابولیکی متفاوت (تثبیت نیتروژن، توانایی حلالیت فسفات، تولید فیتوهورمون‌ها، مواد آنتی‌میکروبی و ...)، می‌توان انتظار اثرات افزایشی یا سینرژیستی و یا حتی آنتاگونیستی داشت. بعضی از مطالعات روی کشت دوتایی *Azospirillum* با استرین‌های دیگر *Azospirillum*، *Bacillus*، *Bradyrhizobium*، باکتری‌های حل‌کننده فسفات، *Rhizobiom*، *Pseudomonas* و *Glomus* تمرکز کرده‌اند، اما تنها بعضی از این اثرات متقابل باعث افزایش تحریک رشد گیاه در مقایسه با تلقیح به‌صورت انفرادی می‌شوند (Couillerot *et al.*, 2012). تاکنون در برخی تحقیقات صورت گرفته، نشان داده شده است که کشت همزمان *B. subtilis* و *A. brasilense* موجب افزایش کارایی آن‌ها شده است (Russo *et al.*, 2005). نتایج تحقیقاتی قبلی نویسندگان مقاله حاضر نشان داده است که *A. oryzae* به‌دلیل تولید هورمون‌های گیاهی یک محرک رشد مناسب است و همچنین *B. amyloliquefaciens* دارای توانایی بالای کنترل زیستی بیمارگرهای گیاهی و خصوصیات محرک رشدی (پروبیوتیک گیاهی) با پتانسیل بالاست (Bagheri *et al.*, 2018). با توجه به این موارد، تحقیق حاضر با هدف بررسی برهمکنش دو باکتری *B. amyloliquefaciens* و *A. oryzae* در افزایش رشد گندم و همچنین بازدارندگی از رشد قارچ *F. graminearum* می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه جدایه‌های باکتریایی و قارچ بیمارگر

باکتری *B. amyloliquefaciens* سویه UTB96 از کلکسیون باکتری‌های دانشگاه تهران، باکتری *A. oryzae* جدایه NBT506 از شرکت فناوری زیستی طبیعت‌گرا (Biorun) و قارچ بیمارگر *Fusarium graminearum* نیز از کلکسیون قارچی دانشگاه تهران دریافت شد.

بررسی خصوصیات آنتاگونیستی سویه‌های منفرد و هم‌کشت علیه پاتوژن مهم‌گندم *F. graminearum*

بررسی قدرت رشد بیمارگر تحت تأثیر تیمارهای باکتریایی به‌صورت بازدارندگی مستقیم در شرایط آزمایشگاه از روش هاجدورن و همکاران با اندکی تغییرات (Hagedorn *et al.*, 1989) استفاده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

ارزیابی بازدارندگی رشد طی ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انجام شد. همچنین بررسی قدرت رشد میسیلیومی بیمارگر تحت تأثیر تیمارهای باکتریایی به‌روش بازدارندگی غیرمستقیم از طریق تأثیر ترکیبات فرار انجام گرفت (Fernando *et al.*, 2005). بعد از پنج روز میزان رشد قارچ مورد بررسی قرار گرفت.

ارزیابی افزایش رشد گیاه

برای ارزیابی افزایش رشد گندم با تلقیح جداگانه و هم‌زمان دو سویه مورد مطالعه، ابتدا خاک استریل حاوی خاک، کود، ماسه و پیت‌ماس با نسبت‌های ۲، ۱، ۱، ۰/۲ به‌ترتیب، به‌میزان ۳۰۰ گرم در هرگلدان تهیه شد. سپس *A. oryzae* و *B. amyloliquefaciens* در محیط کشت LB به مدت یک شب رشد داده شده، سانتریفوژ شده و سپس به طریق شمارش کلنی‌ها روی محیط کشت، تعیین جمعیت شدند. سوسپانسیون سلولی *A. oryzae* با جمعیت 10^8 CFU/ml و *B. amyloliquefaciens* با جمعیت 10^6 CFU/ml و سوسپانسیون کشت مخلوط دو جدایه به‌ترتیب با نسبت جمعیت 10^8: 10^6 تهیه شد. برای تهیه سوسپانسیون اسپور قارچ *F. graminearum*، این بیمارگر روی محیط کشت PDA به‌مدت ۶ روز رشد داده شده و سپس اسپورها از سطح محیط جمع‌آوری و با استفاده از لام مدرج هماسیتومتر شمارش و سوسپانسیونی با جمعیت 10^6 در میلی‌لیتر از اسپورهای این بیمارگر تهیه شد. برای انجام این آزمون، تیمارها به دو دسته تقسیم شدند، پرایم بذر گندم با باکتری‌ها در کشت منفرد و هم‌کشتی و استفاده از سوسپانسیون سلولی باکتری‌ها در کشت منفرد و هم‌کشتی به‌صورت محلول‌پاشی در خاک. تیمارهای مورد استفاده در هر دو گروه شامل: کشت منفرد دو باکتری و هم‌کشتی آنها، بیمارگر فوزاریوم به‌تنهایی، کشت منفرد و هم‌کشتی دو باکتری به‌طور هم‌زمان با فوزاریوم و دو روز قبل از فوزاریوم، فوزاریوم و قارچ‌کش رورال‌تی‌اس (Rovral TS) و شاهد بدون حضور باکتری‌ها و قارچ بیمارگر بودند.

پرایمینگ بذر (Biopriming)

برای این منظور بذر گندم رقم گنبد (از ارقام متداول کشت گندم در استان گلستان) بعد از ضدعفونی ، برای پیش جوانه‌زنی در پتری‌دیش روی کاغذ صافی استریل مرطوب به مدت دو روز قرار گرفتند. سپس بذرهای جوانه زده انتخاب و به مدت دو ساعت درون سوسپانسیون سلول‌های باکتریایی منفرد و هم‌کشت روی شیکر انکوباتور قرار گرفته و بعد سه بذر در هر گلدان کاشته شدند. در تیمارهایی که قارچ بیمارگر اضافه شد، میزان یک میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور به محض کاشت بذر به‌طور همزمان با باکتری‌ها و دو روز بعد از کشت بذرهای حاوی باکتری‌ها به خاک اضافه شد. در تیمار قارچ‌کش، سم بعد از ۱۰ روز به میزان ده میلی‌لیتر (یک در هزار) به گلدان‌ها اضافه شد (ابتدا به قارچ امکان استقرار داده و بعد از سم استفاده شد تا شرایط مشابه شرایط موجود در طبیعت ایجاد شود). گلدان‌ها در اتاقک رشد در دمای ۲۴ درجه سلسیوس در روز و ۲۰ درجه سلسیوس در شب، ۱۶ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی و ۷۰ درصد رطوبت قرار گرفت و هر سه روز یک بار با آب مقطر استریل آبیاری شد. ضمناً، ده روز بعد از کاشت هم یکبار از محلول هوگلند حاوی ماکرو و میکروالمنت‌ها استفاده و بعد از ۲۱ روز شاخص‌های رشدی اندازه‌گیری شد.

محلول‌پاشی خاک

بعد از استریل کردن بذرهای گندم، دو روز بذرها روی کاغذ صافی مرطوب در اتاقک رشد به‌منظور جوانه‌زنی قرار گرفته و بعد بذرهای جوانه‌زده انتخاب و سه بذر در هر گلدان (برای هر تیمار سه تکرار یا سه گلدان استفاده شد) مطابق شرایط قبلی کاشته شد. بعد از یک هفته، در ابتدای زمان دو برگی شدن گیاه، تیمارهای سوسپانسیون باکتری‌ها در کشت منفرد و هم‌کشتی به‌میزان ۱۰ میلی‌لیتر پاشش روی سطح خاک نزدیک طوقه اعمال شد. به‌طور هم‌زمان با تلقیح باکتری‌ها و دو روز بعد از تلقیح باکتری‌ها، پنج میلی‌لیتر

www.SID.ir

Archive of SID

از سوسپانسیون اسپور قارچ بیمارگر با جمعیت 10^6 اسپور در میلی‌لیتر به خاک اضافه شد. گلدان‌ها هر سه روز یکبار با آب مقطر استریل آبیاری شده، ده روز بعد از کاشت هم یکبار از محلول هوگلند حاوی ماکرو و میکروالمنت‌ها استفاده و بعد از ۲۱ روز شاخص‌های رشدی اندازه‌گیری شد (Siah *et al.*, 2010).

ارزیابی شاخص‌های رشدی و بررسی معماری سیستم ریشه‌ای

بعد از ۲۱ روز، گیاهان از گلدان‌ها با دقت خارج شده و تمام سیستم ریشه‌ای و ریزوسفر در آب شسته شد. طول اندام‌های هوایی و ریشه، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه اندازه‌گیری شد. معماری سیستم ریشه‌ای بررسی و عکس‌برداری شد. همچنین به منظور ارزیابی شاخص بیماری DSI (Disease severity index)، زخم‌ها، نکروز و علائم بیماری روی طوقه و ریشه گیاه گندم بررسی و مقیاس‌دهی (امتیاز دادن به زخم‌ها بر اساس مقیاس چشمی) شد (Wang *et al.*, 2015).

تعیین نیتروژن کل گیاه

محتویات کل نیتروژن گیاه به روش میکروکجلدال (اکسید کردن مرطوب) ارزیابی شد. نمونه‌های گیاهی در دمای ۶۰ درجه سلسیوس خشک و آسیاب شده و سپس نیتروژن کل بر اساس پروتکل مربوطه اندازه‌گیری شد (Rojas *et al.*, 2001).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

همه آزمایش‌ها دوبار و هر بار در سه تکرار انجام شدند. مقایسه میانگین و آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 در سطح P=۰/۰۱ و P= ۰/۰۵ و آزمون LSD انجام شد.

نتایج و بحث

خصوصیات آنتاگونیستی سویه‌های منفرد و هم‌کشت علیه پاتوژن مهم‌گندم *F. graminearum*

بررسی قدرت رشد بیمارگر تحت تأثیر تیمارهای باکتریایی به‌صورت بازدارندگی مستقیم

نتایج نشان داد که هر دو باکتری در حالت منفرد و هم‌کشتی به‌خوبی مانع از رشد میسیلیومی قارچ فوزاریوم شده و هاله بازدارندگی مشاهده شد (شکل ۱).

بررسی قدرت رشد میسیلیومی بیمارگر تحت تأثیر ترکیبات فرار تیمارهای باکتریایی

ترکیبات فرار باکتری‌ها از رشد میسیلیومی قارچ بیمارگر جلوگیری کرد، درصد بازدارندگی رشد قارچ بیمارگر توسط کشت منفرد و هم‌کشتی دو باکتری در محیط TSBA در جدول ۱ آمده است و نتایج به‌طور معنی‌دار در سطح یک درصد با شاهد اختلاف نشان دادند. در محیط TSBA بیشترین بازدارندگی مربوط به کشت منفرد *B. amyloliquefaciens* بود اما اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد با هم‌کشتی نداشت. به‌طور کلی همه تیمارهای کشت منفرد و هم‌کشتی باعث بازدارندگی معنی‌داری با شاهد شدند (شکل ۲).

شکل ۱. تشکیل هاله بازدارندگی در کشت متقابل باکتری و قارچ، تیمارها از چپ: قارچ *F. graminearum* به‌عنوان شاهد و بدون حضور باکتری‌ها، کشت متقابل جدایه قارچ و *A. oryzae*، کشت متقابل جدایه قارچ و باکتری *B. amyloliquefaciens*، کشت متقابل جدایه قارچ و هم‌کشتی دو باکتری

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. مقایسه درصد بازدارندگی از رشد *F. graminearum* تحت تأثیر ترکیبات فرار جدایه‌های باکتریایی در محیط TSBA

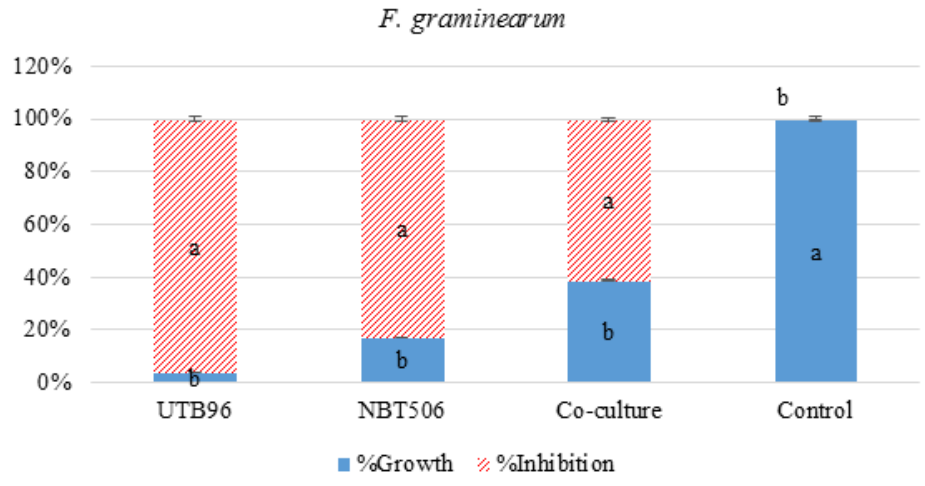
تیمارها	درصد بازدارندگی رشد بیمارگر
B. amyloliquefaciens	96.25 a
A. oryzae	83 a
هم‌کشتی دو جدایه	61.25 a
شاهد (قارچ *F. graminearum*)	0 b

در بررسی ترکیبات فرار نیز مشاهده شد که در حالت کشت منفرد باکتری *A. oryzae* و هم‌کشتی دو باکتری، قارچ بیمارگر رنگدانه تولید نکرده و به‌شدت میزان رشد میسیلیومی آن کاهش می‌یابد.

ارزیابی افزایش رشد گیاه پرایمینگ بذر در بهبود شاخص‌های رشدی و کاهش شاخص بیماری

زمانی که حرف S در مقابل تیمارها به‌کار رفته، نشان‌دهنده کاربرد همزمان قارچ و باکتری؛ و زمانی که عدد دو در مقابل تیمارها به‌کار رفته نشان‌دهنده کاربرد عامل بیمارگر دو روز پس از عوامل باکتریایی است. همه شاخص‌های رشدی در سطح یک درصد ($P\leq ۰/۰۱$) و با استفاده از آزمون LSD مورد بررسی قرار گرفت و نتایج معنی‌داری در تیمارهای مختلف مشاهده شد. بیشترین میزان ارتفاع ریشه به‌ترتیب مربوط به کشت منفرد (NBT506) *A. oryzae*، هم‌کشتی دو باکتری و کاربرد هم‌زمان قارچ بیمارگر و هم‌کشتی دو باکتری بود که به‌طور معنی‌دار نسبت به شاهد بدون کاربرد عوامل میکروبی اختلاف نشان دادند ($P\leq ۰/۰۱$). نتایج بررسی ارتفاع ساقه و اندام‌های هوایی مشخص کرد که تنها در دو تیمار کاربرد قارچ‌کش رورال‌تی‌اس و قارچ بیمارگر به‌طور معنی‌دار با شاهد اختلاف مشاهده شد ($P\leq ۰/۰۱$)، سایر تیمارهای کشت منفرد و هم‌کشتی دو باکتری نیز بعد از آن بیشترین مقادیر را بدون اختلاف با شاهد نشان دادند (شکل۳).

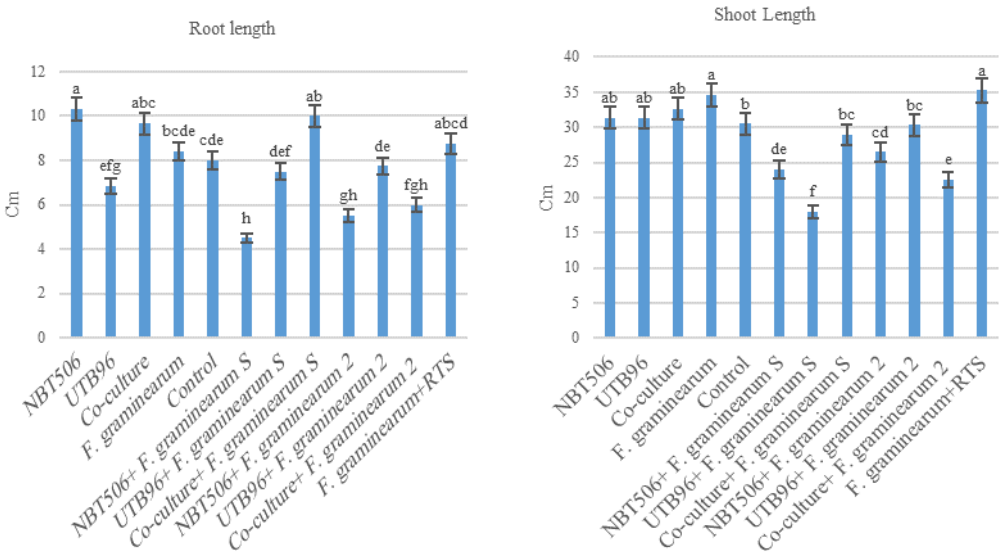
هم‌کشتی دو باکتری مورد مطالعه همزمان با قارچ بیمارگر و هم‌کشتی بدون حضور قارچ، بیشترین وزن تر ریشه را داشتند که به‌طور معنی‌دار با شاهد و قارچ به‌تنهایی و سایر تیمارها اختلاف در سطح یک درصد نشان دادند. این در حالیست که سایر تیمارها حتی تیمار قارچ‌کش اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد نداشتند و حتی کمتر از شاهد بودند. در ارزیابی وزن تر ساقه، تنها تیمار قارچ‌کش به‌طور معنی‌دار نسبت به شاهد و قارچ بیمارگر باعث افزایش شد. هم‌کشتی دو باکتری مورد مطالعه و همچنین کشت منفرد (NBT506) *A. oryzae* بدون حضور قارچ و قارچ بیمارگر به تنهایی نیز در وزن اندام‌های هوایی افزایش ایجاد کردند، اما اختلاف آن‌ها با شاهد معنی‌دار نبود ($P\leq ۰/۰۱$) (شکل ۴).



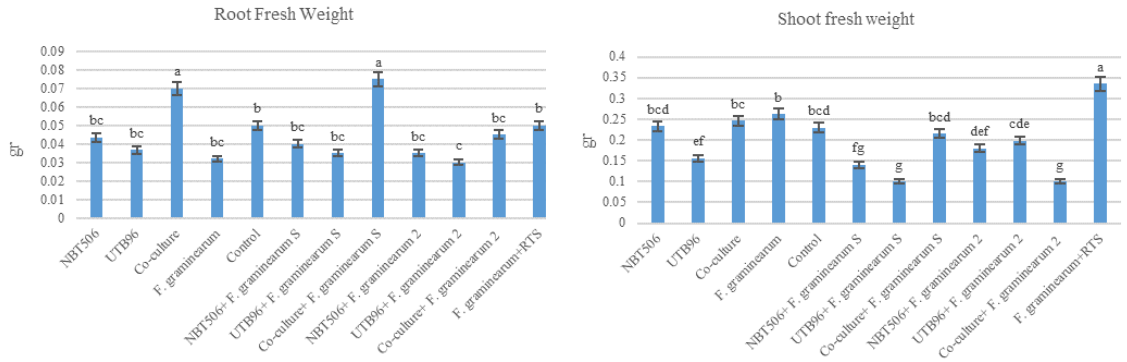
شکل ۲. درصد رشد و بازدارندگی رشد قارچ بیمارگر در حضور تیمارهای منفرد و هم‌کشت باکتریایی ($P\leq ۰/۰۱$) در محیط TSBA

www.SID.ir

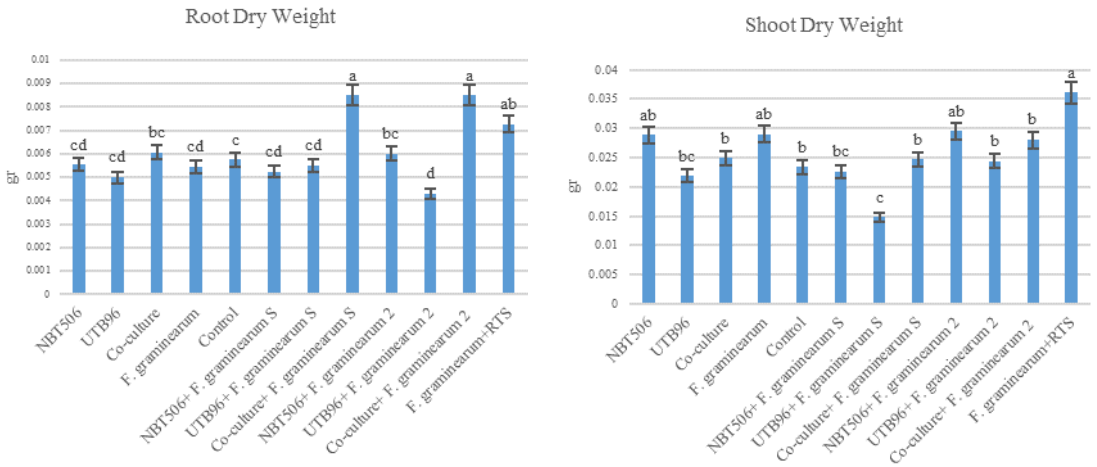
Archive of SID



شکل ۳. مقایسه تأثیر تیمارهای مختلف در ارتفاع ریشه‌ها (چپ) و اندام‌های هوایی (راست)



شکل ۴. مقایسه تأثیر تیمارهای مختلف در وزن تر ریشه‌ها (چپ) و اندام‌های هوایی (راست)



شکل ۵. مقایسه تأثیر تیمارهای مختلف در وزن خشک ریشه‌ها (چپ) و اندام‌های هوایی (راست)

www.SID.ir

Archive of SID

در خصوص وزن خشک ریشه، هم‌کشتی دو جدایه در کاربرد با قارچ به‌طور همزمان و دو روز قبل، بیشترین میزان را نشان داد که به‌طور معنی‌دار با شاهد و سایر تیمارها اختلاف داشت (P≤۰/۰۱). وزن خشک ساقه و اندام‌های هوایی به‌طور مشابه و متناسب با وزن تر در تیمارهای قارچ‌کش (تنها تیمار دارای اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد با شاهد) و قارچ بیمارگر بیشترین مقادیر را داشت و بعد از آن کشت منفرد سویه (NBT506) *A. oryzae* به‌تنهایی و دو روز قبل از کاربرد قارچ بیمارگر بدون اختلاف (P≤۰/۰۱) با شاهد قرار داشتند (شکل ۵).

ارزیابی شاخص شدت بیماری تاییدی بر بهبود شاخص‌های رشدی در تیمارهای هم‌کشتی بود، به‌طوری که در تیمارهایی که قارچ بیمارگر به‌کار رفت، علائم به‌صورت چشمی ارزیابی و مقیاس عددی بین صفر تا پنج داده شدند (۰: بدون علائم، ۱: ۱-۲۰٪، ۲: ۲۰-۴۰٪، ۳: ۴۰-۶۰٪، ۴: ۶۰-۸۰٪ و ۵: ۸۰-۱۰۰٪ علائم نکروز روی ریشه‌ها)، بیشترین علائم مربوط به زمانی بود که قارچ به‌تنهایی به‌کار رفت و در مقایسه با شاهد که در این قسمت کاربرد قارچ عامل بیماری است، تیمارهای هم‌کشتی در هر دو حالت کاربرد هم‌زمان و دو روز قبل از قارچ، کمترین علائم و شاخص شدت را با اختلاف معنی‌دار نشان دادند، درحالی‌که کاربرد قارچ‌کش گرچه میزان شدت بیماری را به‌طور معنی‌دار نسبت به شاهد کاهش داد اما نسبت به این دو تیمار هم‌کشتی علائم بیماری بیشتری داشت (شکل ۶).

بیشترین مقدار درصد کل ازت گیاه گندم تحت تیمار، به‌ترتیب مربوط به هم‌کشتی دو باکتری و کشت منفرد *B. amyloliquefaciens* و هم‌کشتی دو باکتری با کاربرد هم‌زمان قارچ بود و در کاربرد تمام عوامل میکروبی، اختلاف معنی‌دار با شاهد مشاهده شد. درصد ازت کل در تیمار قارچ‌کش کمترین مقدار و بدون اختلاف (P≤۰/۰۱) با شاهد بود (شکل ۷).

اثرات محلول‌پاشی کشت منفرد و هم‌کشتی عوامل میکروبی در بهبود شاخص‌های رشدی و کاهش شاخص بیماری

در این آزمایشات نیز ارزیابی همه شاخص‌های رشدی در سطح یک درصد (P≤۰/۰۱) و با استفاده از آزمون LSD مورد بررسی قرار گرفت و نتایج معنی‌داری در تیمارهای مختلف مشاهده شد. در بررسی طول ریشه، همه تیمارها به استثنای کشت منفرد باکتری *B. amyloliquefaciens* و در کاربرد همزمان با قارچ بیمارگر، با شاهد اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد نشان دادند. از این بین کشت منفرد *A. oryzae* دو روز قبل از کاربرد قارچ بیمارگر، هم‌کشتی دو سویه باکتریایی دو روز قبل از کاربرد قارچ بیمارگر و هم‌کشتی دو باکتری بدون حضور بیمارگر بیشترین مقادیر طول ریشه را داشتند (شکل۸). همچنین نتایج مشاهدات چشمی نشان داد که در کاربرد قارچ بیمارگر، ریشه‌ها بسیار ضعیف بودند. در صورتی‌که در کاربرد باکتری‌ها بخصوص هم‌کشتی، ریشه‌ها قطور و با انشعابات و ریشه‌های فرعی زیاد مشاهده شد. بررسی نتایج ارتفاع ساقه و اندام‌های هوایی نیز مشخص کرد که همه تیمارها به‌استثنای کشت منفرد *B. amyloliquefaciens* و کاربرد تنهایی قارچ عامل بیماری، به‌طور معنی‌دار نسبت به شاهد باعث افزایش طول شدند که در این بین تیمارهای کشت منفرد و هم‌کشت زمانی که دو روز قبل از قارچ به‌کار رفتند بیشترین مقادیر را داشتند (شکل ۸). بر اساس این مطالعات و بررسی طول ساقه و ریشه، می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد زودتر عوامل باکتریایی به استقرار و افزایش کارایی آن‌ها در برابر قارچ کمک کرده و خصوصیات پروبیوتیکی را افزایش می‌دهد. به‌طور کلی تیمارهای باکتریایی در حضور و عدم حضور قارچ افزایش ارتفاع ساقه و ریشه را باعث شدند.

نتایج نشان داد که تیمار کاربرد هم‌کشتی دو جدایه قبل از تلقیح با قارچ بیمارگر بیشترین میزان وزن تر را داشت و پس از آن کاربرد کشت منفرد

www.SID.ir

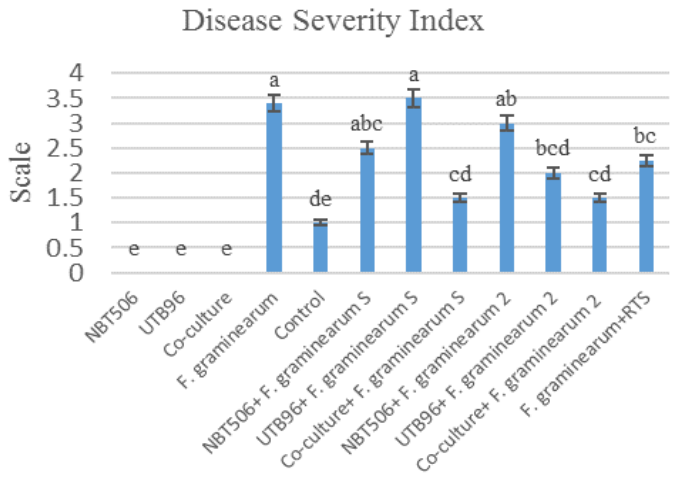
Archive of SID

A. oryzae دو روز قبل از تلقیح با قارچ، کمترین مقدار وزن تر ریشه متعلق به تیمار قارچ عامل بیماری به‌تنهایی بود که این نتایج با مشاهده ریشه‌های کاملاً ضعیف مطابقت داشت و پس از آن شاهد کمترین وزن تر ریشه را داشت. در مورد وزن تر ساقه و اندام‌های هوایی همه تیمارها به استثنای کشت منفرد *B. amyloliquefaciens* به‌تنهایی و در کاربرد هم‌زمان با قارچ، به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بودند ($P\leq ۰/۰۱$) که از میان آن‌ها تیمارهای کشت منفرد و هم‌کشتی که قبل از قارچ بیمارگر محلول‌پاشی شدند، بیشترین مقادیر را نشان دادند (شکل ۹).

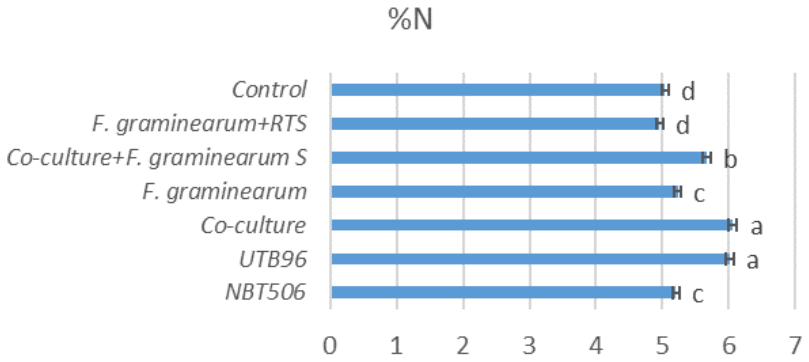
نتایج بررسی وزن خشک ساقه و ریشه نشان داد که کشت جداگانه دو باکتری *B. amyloliquefaciens* و *A. oryzae* بیشترین مقادیر را داشتند، در شرایط هم‌کشتی دو باکتری تنها در وزن خشک ساقه اختلاف معنی داری با شاهد نشان دادند (شکل ۱۰).

تأثیر تیمارهای مختلف در شاخص شدت بیماری *F. graminearum* روی گیاه گندم

همه تیمارهای کشت منفرد و هم‌کشتی همراه قارچ بیمارگر چه به‌صورت هم‌زمان و چه کاربرد دو روز زودتر از قارچ، کاهش معنی‌داری در شدت بیماری نسبت به شاهد نشان دادند. بین دو گروه زمانی اضافه کردن قارچ بیمارگر، زمانی که قارچ دیرتر از عوامل باکتریایی محلول‌پاشی شد، شاخص بیماری بیشترین کاهش را مخصوصاً در تیمار هم‌کشتی نشان داد (شکل ۱۱).



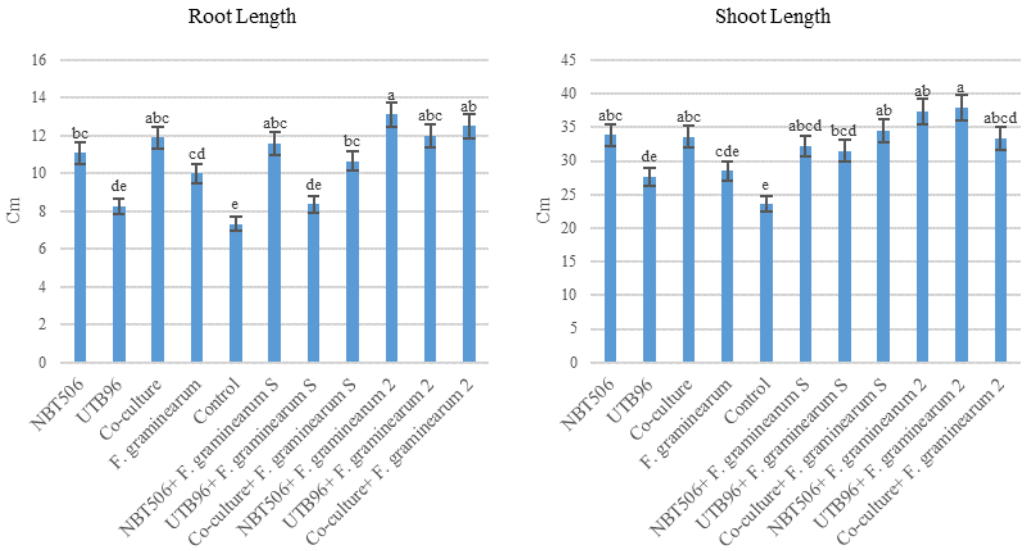
شکل ۶. ارزیابی شاخص شدت بیماری قارچ *F. graminearum* روی گیاه گندم در تیمارهای مختلف با عوامل میکروبی و مقیاس‌دهی عددی بر مبنای ۰ تا ۵



شکل ۷. درصد نیتروژن کل گیاه گندم در کاربرد عوامل میکروبی در کشت منفرد و هم‌کشتی

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۸. مقایسه تأثیر تیمارهای مختلف در ارتفاع ریشه‌ها (چپ) و اندام‌های هوایی (راست)

در مجموع ارزیابی شاخص‌های رشدی و بیماری در حالت محلول‌پاشی خاک با عوامل میکروبی نشان داد که تقریبا در همه شاخص‌ها، بیشترین و بهترین مقادیر مربوط به تیمارهایی است که قبل از قارچ عامل بیماری به خاک اضافه شده‌اند و در نتیجه به‌طور بهینه روی ریزوسفر مستقر شده و در رقابت با قارچ عامل بیماری موفق‌تر عمل کرده‌اند و شاخص بیماری را به‌شدت کاهش دادند که از بین این گروه‌های تیماری در مجموع، بهترین نتایج مربوط به هم‌کشتی دو جدایه با حداکثر شاخص‌های رشدی و حداقل شاخص بیماری بود.

تأثیر تیمارهای مختلف در میزان درصد ازت کل گیاه گندم

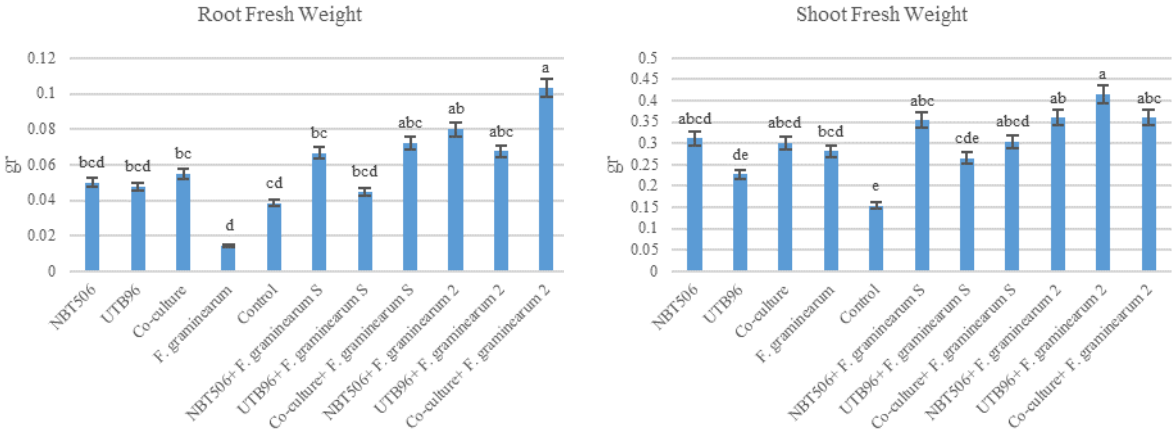
گیاهان مربوط به تیمارهای کشت منفرد جدایه *B. amyloliquefaciens* به تنهایی و همزمان با کاربرد قارچ عامل بیماری، هم‌کشتی دو جدایه دو روز قبل از آلودگی با قارچ بیمارگر و به‌طور همزمان به‌ترتیب بیشترین مقدار ازت را نشان دادند (شکل۱۲)، در واقع حضور عوامل باکتریایی میزان ازت در گیاه را نسبت به شاهد افزایش داد که می‌تواند به‌عنوان یک فاکتور مهم در خصوصیات این باکتری‌ها در کاهش مصرف سموم شیمیایی باشد.

مقایسه شاخص‌های رشدی در دو گروه تیماری پرایمینگ بذر و محلول‌پاشی خاک با کشت منفرد و هم‌کشتی‌جدایه‌های باکتریایی و ارزیابی شاخص بیماری *F. graminearum* در گیاه گندم نشان داد محلول‌پاشی خاک نسبت به پرایم بذر مشخصاً شاخص‌های رشدی از جمله طول ساقه و ریشه، وزن تر و خشک ساقه و ریشه را افزایش داده و شاخص بیماری را نیز بیشتر کاهش می‌دهد. در نتیجه مقایسه نحوه کاربرد، کاربرد عوامل بیوکنترل به‌صورت محلول‌پاشی اثربخش‌تر عمل می‌کند. در محلول‌پاشی سطح خاک با عوامل میکروبی طول ریشه ۸۰-۱۴٪، وزن تر ریشه ۱۶۷-۱۸٪، وزن خشک ریشه ۱۱۰-۴٪، طول ساقه ۶۱-۱۷٪، وزن تر ساقه ۱۶۹-۴۷٪ و وزن خشک ساقه ۹۰-۰/۴٪ افزایش را نشان دادند در حالی که تیمار قارچ به‌تنهایی حدود ۶۳ و ۵ درصد کاهش وزن تر و خشک ریشه را به‌ترتیب نشان داد که دلیل این امر تأثیر قارچ بر پوسیدگی ریشه و تضعیف ریشه‌هاست. درصد کاهش شاخص بیماری نیز ۱۰۰-۶۲٪ در تیمارهای مختلف برآورد شد. در تیمار بذر با عوامل میکروبی در بیشتر شاخص‌ها کاهش درصدها نسبت

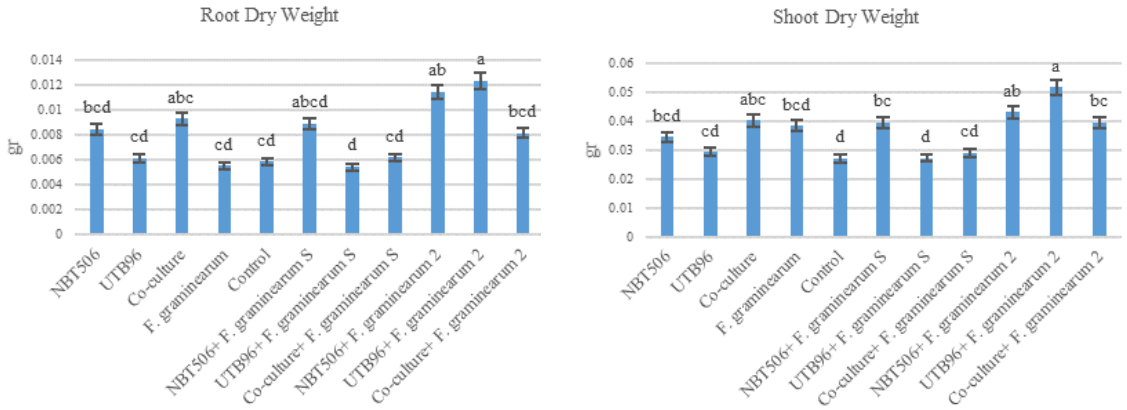
www.SID.ir

Archive of SID

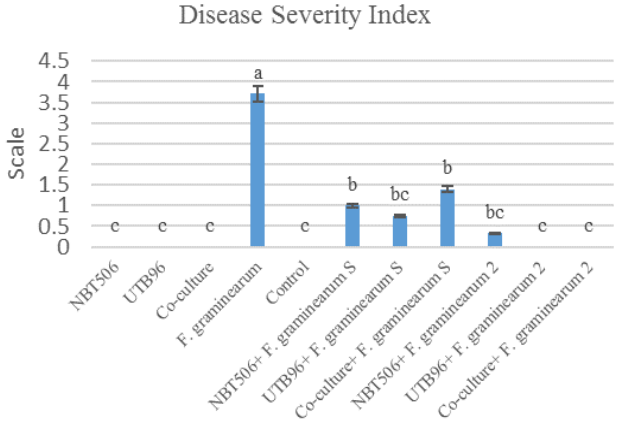
به شاهد مشاهده می‌شود به استثنای موارد هم‌کشتی که باعث افزایش شاخص‌های رشدی تا ۵۰ درصد هم شده‌اند. در این گروه تیماری شاخص بیماری نیز ۲۶–۵۶ درصد کاهش یافت.



شکل ۹. مقایسه تأثیر تیمارهای مختلف در وزن تر ریشه‌ها (چپ) و اندام‌های هوایی (راست)



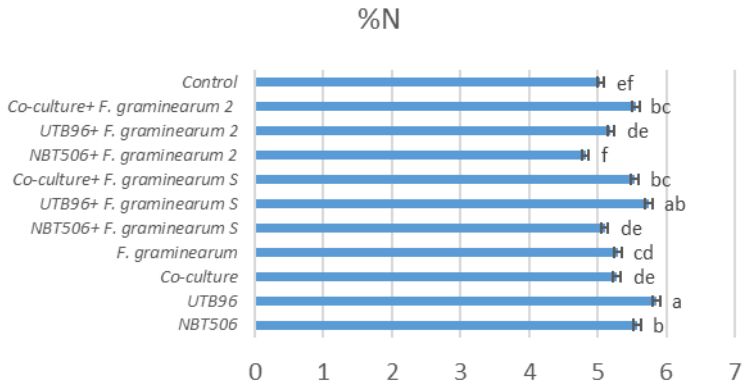
شکل ۱۰. مقایسه تأثیر تیمارهای مختلف در وزن خشک ریشه‌ها (چپ) و اندام‌های هوایی (راست)



شکل ۱۱. ارزیابی شاخص شدت بیماری قارچ *F. graminearum* روی گیاه گندم در تیمارهای مختلف با عوامل میکروبی و مقیاس‌دهی عددی بر مبنای ۰ تا ۵

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱۲. درصد نیتروژن کل گیاه گندم در کاربرد عوامل میکروبی در کشت منفرد و هم‌کشتی

بررسی گیاهان در اتاقک رشد نیز بالاترین نرخ رشدی به میزان ۱۷/۵٪ افزایش در تیمار هم‌کشتی دو سویه باسیلوس بعد از ۱۳ روز از جوانه‌زنی بدست آمده است. نتایج شگفت‌انگیز در حضور قارچ‌های پاتوژن مشاهده شد که طول گیاه را در گونه *F. culmorum* و *F. graminearum* به‌ترتیب ۱۶/۰۸ و ۳۱/۶۵٪ افزایش دادند که این موضوع در مطالعه ما هم با افزایش ۲۰ درصدی مشاهده شده گرچه کمتر از میزان افزایش رشد در کشت منفرد و هم‌کشتی بود ولی در کل این امر به‌دلیل توانایی استرین‌های قارچی در تولید فیتوهورمون‌ها از قبیل جیبرلین‌ها می‌باشد (Ma *et al.*, 2013). افزایش ضخامت و تعداد ریشه‌های مویی نیز دلیل افزایش درصد شاخص‌های رشدی در مطالعات ما بود که مشابه با مطالعات دیگران است مثلا نتایج اتاقک رشد وقتی که *Bacillus* sp. در خاک به‌کار برده شد، گیاه گندم به‌صورت کیفی برگ‌های بیشتر، ریشه‌های ضخیم‌تر و کوتاه‌تر در مقایسه با شاهد داشت، طول ساقه در همه تیمارها یکسان بود و آلودگی میسیلیومی قارچ *Bipolaris sorokiniana* در همه دیده شد گرچه این آلودگی به‌صورت سطحی بوده و به بافت‌های داخلی نرسیده بود (Carissimi *et al.*, 2009). آزمایش‌های مزرعه‌ای نشان داد که شاخص بیماری *F. graminearum* در حضور باکتری *B. velezensis* LM2303 به‌طور معنی‌دار در سطح یک درصد حدود ۷۲٪ نسبت به شاهد و ۶۰٪ نسبت به تیمار قارچ‌کش کاهش یافت و کارایی کنترل ۷۲٪ برآورد شد که ۴۳٪ بیشتر از کاربرد قارچ‌کش بود، بنابراین این جدایه به‌عنوان عامل بیوکنترل قوی علیه فوزاریوم گندم شناخته شد (Chen *et al.*, 2018). که میزان درصد شاخص بیماری در نتایج حاصل از هم‌کشتی دو باکتری مورد مطالعه ما تا ۱۰۰ درصد هم مشاهده شد و به‌طور موفقیت‌آمیزی پتانسیل بالای این جدایه‌ها در کشت منفرد و هم‌کشتی در کاهش بیماری مشخص شد.

یاهالوم و همکاران در ۱۹۹۰ گزارش کردند که تلقیح همزمان *Medicago polymorpha* با *Rhizobium* sp. و *Azospirillum* sp.، تعداد، وزن و فعالیت تثبیت نیتروژن گره‌های ریشه را در مقایسه با تلقیح کشت منفرد افزایش داد (Yahalom *et al.*, 1990). میزان ازت کل گیاه گندم در کشت منفرد و بخصوص هم‌کشتی دو باکتری مورد مطالعه نسبت به شاهد بالاتر بود، به‌طور مشابه، وزن خشک و نیتروژن کل گیاه گندم تلقیح‌شده به‌صورت هم‌کشتی با *B. megaterium* و *A. lipoferum* به‌طور معنی‌داری بالاتر از کشت منفرد هر یک از جدایه‌ها بود، همچنین محتوی فسفر گیاه گندم در هم‌کشتی ۵۳ و ۳۷٪ نسبت به شاهد و کشت منفرد آزوسپیریلوم افزایش یافت، در نتیجه هم‌کشتی این دو باکتری تعادل بیشتر موادغذایی برای گیاهان را فراهم کرده و بهبود و افزایش نیتروژن و فسفر در

www.SID.ir

Archive of SID

گیاه از مکانیسم‌های مهم آن است (El-Komy, 2005). گونه‌ای از باسیلوس در هم‌کشتی با ریزوبیوم در گیاه لوبیا، گره‌زایی را افزایش داده و بقا روی بذر را افزایش می‌دهد و تثبیت نیتروژن را در همزیستی لوبیا و ریزوبیوم بهبود می‌بخشد (Camacho *et al.*, 2001). برهمکنش آزوسپیریلوم و باسیلوس حداکثر محتوی نیتروژن در گیاه فلفل به میزان ۴۲/۵۶ میلی‌گرم هر گیاه و پس از آن، سودوموناس و باسیلوس با میزام ۳۹ میلی‌گرم در هر گیاه داشتند (Kanchana *et al.*, 2014). Lounaci *et al.* (2016) شدت علائم فوزاریوم در بافت طوقه را با استفاده از شاخص بیماری صفر تا سه ارزیابی کردند و طیف این شاخص زمانی که قارچ به‌تنهایی به‌کار رفت ۳-۲/۲ بود. *Paenibacillus polymixa* شاخص بیماری را در قارچ‌های *F. graminearum*، *F. culmorum* و *F. verticillioides* به‌ترتیب ۷۵، ۷۸ و ۷۲ درصد کاهش داد. بر روی گیاه گندم دو گونه اول که عوامل پوسیدگی طوقه هستند باعث کاهش معنی‌دار در وزن خشک ریشه شدند که این میزان ۵۹ و ۲۹ درصد به‌ترتیب در مقایسه با شاهد بودند درحالی‌که با اضافه کردن این باکتری به محیط، وزن خشک ریشه در مقایسه با شاهد برای این دو گونه قارچی ۷۰ و ۹۰ درصد به‌ترتیب افزایش یافت (Lounaci *et al.*, 2016). همچنین *B. subtilis* در گلخانه شدت و انتشار بیماری FHB روی گندم را به میزان ۹۶ و ۷۸ درصد کاهش داد که این بازدارندگی قارچ در اثر ترکیبات فعال زیستی در محیط مایع است (Schisler *et al.*, 2002). در مطالعه ما شاخص شدت بیماری بر مبنای صفر تا پنج ارزیابی و کمترین میزان مربوط به هم‌کشتی دو سویه باکتری بود. در نتایج این تحقیق مشاهده می‌شود که بسیاری از شاخص‌های رشدی در حالتی که باکتری‌ها به‌صورت کشت منفرد و یا هم‌کشتی همراه با قارچ بیمارگر به‌کار برده‌شده‌اند، افزایش یافته است، که بر اساس مطالعات محققان این فرضیه وجود دارد که شبکه‌های قارچی در طول ریشه‌های پیوسته درون خاک استقرار یابند که برای رشد و حرکت باکتری‌های متحرک و غیر متحرک در ایمنی ریشه مطلوب است (Hassani *et al.*, 2018). که این موارد به‌عنوان دلایلی برای این افزایش رشد گیاه در حضور قارچ مطرح می‌شود.

به‌طورکلی نتایج نشان داد برهمکنش *A. oryzae* و *B. amyloliquefaciense* سازگار بوده و اثرات مثبتی در بهبود رشد گیاه گندم و کاهش خسارت بیماری قارچ *F. graminearum* داشتند. این دو جدایه بومی ایران بوده و تجاری شده‌اند، با توجه به مشخص شدن اثرات مثبت این برهمکنش، تولید تجاری با حفظ خصوصیات آنتاگونیستی و پروبیوتیکی هر دو جدایه مقرون به‌صرفه‌تر است.

REFERENCES

Ahmadi K, Qolizadeh H, Ebadzadeh H, Hosseinpour R, Abdshah H, Kazemian A, Rafiee M (2017) Crop Agri. Database 2015-2016.

Akinsanmi OA, Mitter V, Simpfendorfer S, Backhouse D, Chakraborty S (2004) Identity and pathogenicity of *Fusarium* spp. isolated from wheat fields in Queensland and northern New SouthWales. Austral. J. Agri. Res. 55: 97-107.

Bagheri N, Ahmadzadeh M, Ghasemi S, Vahidinasab M, Ghorshi Sh (2018) *Bacillus amyloliquefaciens* UTB96, a superior plant probiotic and aflatoxin-degrading bacterium. J. Bio. Plant Protect. In press.

Bashan Y, de-Bashan LE (2010) How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth a critical assessment. Adv. Agro. 108: 77-136.

Bockus WW, Bowden RL, Hunger RM, Morrill WL, Murray TD, Smiley RW

www.SID.ir

Archive of SID

(2010) Compendium of wheat diseases and pests, 3th Edition, APS.

Camacho M, Santamaria C, Temprano F, Rodriguez-Navarro DN, Daza A (2001) Co-inoculation with *Bacillus* sp. CECT 450 improves nodulation in *Phaseolus vulgaris* L. Can. J. Microbiol. 47: 11.

Carissimi M, Giraudo MS, Germani JC, Van Der Sand ST (2009) Antifungal activity of *Bacillus* sp. E164 against *Bipolaris sorokiniana*. Biociens. Porto. Alegre. 17 (1): 48-58.

Castillo P, Molina R, Andrade A, Vigliocco A, Alemano S, Cassan FD (2015) Phytohormones and other plant growth regulators produced by PGPR: the genus *Azospirillum*. In: Cassan FD, Okon Y, Creus CM (eds) Handbook for *Azospirillum*, Springer International Publishing Switzerland. 514pp.

CGIAR report, Research program on wheat, 2018 (https://wheat.org/wheat-in-the-world/)

Chakraborty S, Obanor F, Westecott R, Abeywickrama K (2010) Wheat crown rot pathogen *Fusarium graminearum* and *F. pseudograminearum* lacks specialisation. Phytopathol. 100: 1057-65.

Chen L, Heng J, Qin S, Bian K (2018) A comprehensive understanding of the biocontrol potential of *Bacillus velezensis* LM2303 against *Fusarium* head blight. PLS. One. 13(6): e0198560.

Combes-Meynet E, Pothier JF, Moenne-Loccoz Y, Prigent-Combaret C (2011) The *Pseudomonas* secondary metabolite 2, 4-Diacetylphloroglucinol is a signal inducing rhizoplane expression of *Azospirillum* genes involved in plant-growth promotion. APS. 24 (2): 271-284.

Compant S, Duffy B, Nowak J, Clement C, Barka EA (2005) Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. Appl. Envir. Microbiol. 71: 4951-4959.

Couillerot O, Ramirez-Trujillo A, Walker V, Felten AV, Jansa J, Maurhofer M, Defago G, Prigent-Combaret C, Comte G, Caballero-Mellado J, Moënne-Loccoz Y (2012) Comparison of prominent *Azospirillum* strains in *Azospirillum–Pseudomonas–Glomus* consortia for promotion of maize growth. Appl. Microbiol. Biotechnol. 97(10): 4639-4649.

Doornbos R, van Loon L, Bakker P (2012) Impact of root exudates and plant defense signaling on bacterial communities in the rhizosphere. Rev. Agro. Sustain. Develop. 32: 227–243.

El-Komy HMA (2005) Co immobilization of *Azospirillum lipoferum* and *Bacillus megaterium* for successful phosphorus and nitrogen nutrition of wheat plants. Food Technol. Biotechnol. 43 (1): 19–27.

Fernandez MR, Holzgang G, Turkington TK (2009) Common root rot and crown rot of barley crops across Saskatchewan and in north-central Alberta. Can. J. Plant Pathol. 31: 96-102.

Fernando WGD, Ramarathnama R, Krishnamoorthyb AS, Savchuka SC (2005) Identification and use of potential bacterial organic antifungal volatiles in biocontrol. Soil Biol. Bioche. 37: 955-964.

Grosu AI, Sicuia OA, Dobre A, Voaides C, Cornea CP (2015) Evaluation of some *Bacillus* spp. strains for the biocontrol of *Fusarium graminearum* and *F. culmorum* in wheat. Agri Sci. Procedia. 6: 559-566.

Hagedorn C, Gould WD, Bardinelli TR (1989) Rhizobacteria of cotton and their repression of seedling disease pathogens. Appl. Envir. Microbiol. 55: 2793- 2797.

Hassani MA, Duran P, Hacquard S (2018) Microbial interactions within the plant holobiont. Microb. 6:58.

Kanchana D, Jayanthi M, Usharani G,

www.SID.ir

Archive of SID

Saranraj P, Sujitha D (2014) Interaction Effect of Combined Inoculation of PGPR on Growth and Yield Parameters of Chilli Var K1 (*Capsicum annuum* L.). Inter. J. Microbiol. Res. 5 (3): 144-151.

Lounaci L, Guemouri-Athmani S, Boureghda H, Achouak W, Heulin T (2016) Suppression of crown and root rot of wheat by the rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa*. Phytopathol. Med. 55 (3): 355−365.

Ma LJ, Geiser DM, Proctor RH, Rooney AP, O'Donnell K, Trail F, Kazan K (2013) *Fusarium* pathogenomics. An. Rev. Microbiol. 67: 399-416.

Marimuthu S, Subbian P, Ramamoorthy V, Samiyappan R (2002) Synergistic effect of combined application of *Azospirillum* and *Pseudomonas fluorescence* with inorganic fertilizer on root rot incidence and yield of cotton. J. Plant Dis. Protect. 109 (6): 569-577.

Perez-Garcia A, Romero D, de Vicente A (2011) Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of Bacilli in agriculture. Cur. Opinion Biotechnol. 22: 187–193.

Rojas A, Holguin G, Glick BR, Bashan Y (2001) Synergism between *Phyllobacterium* sp. (N2-fixer) and *Bacillus licheniformis* (P-solubilizer), both from a semiarid mangrove rhizosphere. FEMS Microbiol. Ecol. 35: 181-187.

Russo A, Felici C, Toffanin A, Gottz M, Collados C, Barea JM, Moenne-Loccoz Y, Smalla K, Vanderleyden J, Nuti M (2005) Effect of *Azospirillum* inoculants on arbuscolar mycorrhiza establishment in wheat and maize plants. Biol. Fertil. Soils. 41: 301-309.

Siah A, Deweer C, Morand E, Reignault P, Halama P (2010) Azoxystrobin resistance of French *Mycosphaerella graminicola* strains assessed by four in vitro bioassay and by screening of G143A substitution. Crop. Prot. 29:737-743.

Schisler DA, Khan NI, Boehm MJ, Slininger PJ (2002) Greenhouse and field evaluation of biological control of *Fusarium* head blight on durum wheat. Plant Dis. 86: 1350- 1356.

Wachowska U, Packa D, Wiwart M (2017) Microbial inhibition of *Fusarium* pathogens and biological modification of Trichothecenes in cereal grains. Toxins. 9: 408.

Wang Q, Buxa SV, Furch A, Friedt W, Gottwald S (2015) Insights into *Triticum aestivum* seedling root rot caused by *Fusarium graminearum*. Americ. Phytopathol. Soci. (APS).

Wasim M (2006) Role of chemotaxis genes in wheat root colonization by *Azospirillum brasilense*. Dissertation, Georgia State University.

Wiese MV, Murray TD, Forster RL (2000) Common names of plant diseases: Diseases of wheat. Americ. Phytophatol. Soci. (APS).

Yahalom E, Okom Y, Dovrat A (1990) Possible mode of action of *Azospirillum brasilense* strain Cd on the root morphology and nodule formation in burr medic (*Medicago plymorpha*). Can. J. Microbiol. 36: 10-4.

www.SID.ir