مقاله کوتاه علمی

خاصیت ضد میکروبی باکتری‌های لاکتوباسیلوس ریزوسفر گیاه *Helianthemum ledifolium* و خاک اطراف دنبلان بیابانی، *Terfezia claveryi* در استان گلستان

رقیه حبیبی[۱]، کامران رهنما[۱]، سید اسماعیل رضوی[۱]، مرتضی خمیری[۲]، محمد رضا آصف[۳]

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲- گروه میکروبیولوژی و فناوری، دانشکده مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۳- مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

مسئول مکاتبات: کامران رهنما، پست الکترونیک: Kamranrahnama1995@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۷/۰۷ ۶(۱) ۱۰۱-۱۰۶ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۱۶

چکیده

استفاده گسترده از مواد شیمیایی و آفت‌کش‌ها همواره منجر به ایجاد خطراتی در سلامتی انسان، جانوران، وقوع تغییرات اکولوژیکی و عدم تعادل در پایداری محیط زیست شده است. در این مطالعه با نمونه‌برداری از ناحیه ریزوسفر گیاه *Helianthemum ledifolium* و خاک اطراف دنبلان‌های بیابانی از مناطق بیابانی استان گلستان، هفت سویه لاکتوباسیلوس گرم مثبت و کاتالاز منفی روی محیط کشت‌های PDA، NA و MRS جداسازی و شناسایی شدند. آزمایش‌های بیوشیمیایی نشان داد که دامنه رشد برخی از سویه‌ها در اسیدیته ۳ تا ۸ قرارگرفت و توانایی رشد در دمای حداقل ۱۵ و حداکثر ۴۵ درجه سلسیوس داشته و قادر به تخمیر قندهای مورد آزمون بودند. با استفاده از توالی ژن *16S rDNA*، سویه‌های R11، R12، R21، R22، R31، S11 و S12 گونه *Lactobacillus plantarum* تشخیص داده شدند. بالاترین میزان بازدارندگی در روش نشت در آگار با قطر هاله ۱۱ میلی‌متر در کنترل عامل بیمارگر گیاهی *Pseudomonas syringae* و باکتری *Staphylococcus aureus* توسط سویه‌های R31 و S11 به‌ترتیب مربوط به سویه‌های اطراف ریشه گیاه همزیست *H. ledifolium* و خاک اطراف دنبلان انجام شد. در فعالیت ضد قارچی حداکثر نرخ مهار رشد برای قارچ‌های *Penicillium expansum* و *Fusarium solani* به‌ترتیب ۶۹/۳۷ و ۶۶/۹۹ درصد بود. کاهش تشکیل اسپور پنیسیلیوم در مقایسه با شاهد مشاهده گردید. نتایج آماری براساس نرم‌افزار SAS و طرح کاملاً تصادفی نشان داد که باکتری‌های اسید لاکتیک با منشا گیاهی و خاک توانایی ممانعت از رشد قارچ و باکتری‌های بیماری‌زا را با طیف بالا دارند و می‌توان از آن‌ها به عنوان باکتری‌های بیوکنترل در آلودگی‌های پس از برداشت محصولات کشاورزی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: همزیستی، قارچ دنبلان، لاکتوباسیلوس، خاصیت ضد میکروبی، کنترل زیستی

مقدمه

باتوجه به نیاز رو به رشد جهان برای مواد غذایی همواره حفظ محصولات کشاورزی از عوامل مضر حائز اهمیت بوده است. بدین منظور، استفاده از باکتری‌های بیوکنترل اثرات بازدارندگی در بیمارگرهای گیاهی داشته و منجر به حفظ سلامت محیط زیست می‌گردند (Ahmadzade, 2014). باکتری‌های اسید لاکتیک (Lactic acid bacteria=LAB) در گروه باکتری‌های نامتجانس، گرم مثبت، فاقد اسپور، بی‌حرکت و کاتالاز منفی هستند که منجر به دفع محصول عمده و نهایی با نام اسید لاکتیک می‌شوند. محققان گزارش کرده‌اند که سویه‌های LAB قادر به مهار عوامل بیماری‌زای غذازاد مانند *Staphylococcus aureus*، *Salmonella typhimurium*، *Escherichia coli* و *Listeria monocytogenes* هستند (Darsanaki *et al*., 2012). علاوه بر این، LAB قادر به مهار سموم قارچی *Penicillium expansum*، *Botrytis*

Archive of SID

www.SID.ir

Fusarium graminearum، *A. flavus*، *Aspergillus niger*، *cinerea* و همچنین باکتری‌های بیماری‌زایی گیاهی مانند *Xanthomonas campestris* و *Pectobacterium carotovorum* هستند (Trias *et al*., 2008). قارچ‌های دنبلان بیابانی گروهی از قارچ‌های خوراکی زیرزمینی هستند که شامل گونه‌های متعددی از جنس‌های *Terfezia*، *Tirmania* و *Picoa* هستند. این قارچ‌ها با ریشه اعضای خانواده Cistaceae شامل گونه‌های یک‌ساله و چند ساله متعدد از جنس‌های *Cistus*، *Tuberaria* و بخصوص *Helianthemum* همزیستی می‌کنند (Jamali & Banihashemi, 2012).

مواد و روش‌ها

نمونه‌های گیاه *H. ledifolium*، خاک ناحیه ریزوسفر و مقادیری خاک اطراف قارچ دنبلان بیابانی (*T. claveryi*) از مراتع استان گلستان (شهرستان گنبد کاووس، مناطق داشلی برون و کلیجه) تهیه گردید. به منظور جداسازی باکتری‌ها از ریشه گیاه *H. ledifolium*، پس از تهیه رقت‌های باکتریایی 10^{-5} تا 10^{-8} به همراه ۰/۰۱ درصد سیکلوهگزامید جهت مهار رشد قارچ به محیط کشت جامد MRS agar (de Man, Rogosa and Sharpe agar) منتقل و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس نگهداری شد. به منظور شناسایی اولیه سویه‌ها از آزمون‌های رنگ‌آمیزی گرم و آزمون تولید کاتالاز استفاده شد (Aazami *et al*., 2014). آزمون هموفرمنتاتیو (hemofermentative) (باکتری‌هایی که ۹۰ درصد متابولیت آن‌ها را اسید لاکتیک تشکیل می‌دهد) از هتروفرمنتاتیو (heterofermentative) (باکتری‌هایی که علاوه بر اسید لاکتیک قادر به تولید متابولیت‌های دیگر چون پراکسید هیدروژن، اسیدهای آلی و اسید استیک هستند) و بررسی تولید گاز از دی- گلوکز از روش نیشا و همکاران (2013)، رشد در دمای ۱۵ و ۴۵ درجه سلسیوس از روش نای و همکاران (2015)، رشد در pH مختلف و آزمون مقاومت به غلظت‌های بالای نمک از روش کولادو و همکاران (2009) در محیط کشت مایع MRS استفاده شد. آزمون تخمیر کربوهیدرات براساس روش کای و همکاران (1998) انجام شد. استخراج DNA باکتری با استفاده از روش CTAB و NaCl با کمی تغییر (Wilson, 1987) انجام و واکنش PCR با استفاده از آغازگرهای عمومی ژن *16S rDNA* (1492R (5´ TACGGYTACCTTGTTACGACTT 3´) و (27F (5´ AGAGTTTGATCMTGGCTCAG 3´) صورت گرفت (Aazami *et al*., 2014).

فعالیت ضد باکتریایی در مقابل باکتری *E. coli*، *S. aureus* و *P. syringae* CCOS2 با روش نشت در آگار و در محیط کشت مولر هینتون آگار (MHA) انجام و قطر هاله بازدارندگی اندازه گیری شد. فعالیت ضد قارچی باکتری‌های LAB علیه چهار قارچ *Fusarium solani*، *Verticillium dahliae*، *Aspergillus niger* و *Penicillium expansum* با روش کشت متقابل در محیط کشت MRS agar مورد آزمون قرار گرفت (Fhoula *et al*., 2013). درصد بازدارندگی رشد با استفاده از رابطه (IP=[(R1-R2)/R1]*100) اندازه‌گیری شد. نتایج به‌دست آمده با نرم‌افزار SAS در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که رشد سویه‌ها در pH کمتر از ۳ به زیر ۲۳ درصد و تا حد صفر رسید. اکثر سویه‌ها تا ۸ درصد نمک را تحمل و بیشترین درصد رشد برای باکتری‌ها در pH= ۴/۷ بود. نتایج مربوط به مقاومت نمک نشان داد که نمک تأثیر ممانعت کنندگی روی برخی از سویه‌ها دارد که باعث کاهش درصد رشد آن‌ها نسبت به حالت کنترل (فاقد نمک) شد. تمامی سویه‌های باکتری اسید لاکتیک در نمک ۶ درصد بالاترین رشد را داشتند به طوری که با افزایش میزان درصد نمک، درصد رشد آن‌ها نیز کاهش یافت. هیچ کدام از آن‌ها از تخمیر قند گلوکز گاز تولید نکردند و به عنوان هوموفرمنتاتیو شناسایی شدند. تمام سویه‌ها در دمای ۴۵ درجه سلسیوس رشد کردند. همچنین تمام سویه‌ها به جز S11 و S12 قادر به رشد در دمای ۱۵ درجه سلسیوس بودند (جدول ۱). در آزمون تخمیر کربوهیدرات برای باکتری‌های

Archive of SID

www.SID.ir

اسید لاکتیک منتخب، هر هفت سویه نتایج مشابهی در تخمیر قندهای گلوگز، فروکتوز، لاکتوز، سوکروز، آرابینوز و گالاکتوز نشان دادند. از طرفی هیچیک از این سویه‌ها نتوانستند قند زایلوز را تخمیر کنند.

جدول ۱- ویژگی‌های بیوشیمیایی باکتری‌های اسید لاکتیک جداسازی شده از ریزوسفر گیاه *Helianthemum ledifolium* و خاک دنبلان

Table 1. Biochemical characteristics of lactic acid bacteria isolated from *Helianthemum ledifolium* rhizosphere and soil.

Strain	Growth rate in pH 3.7/5.7 (%)	Growth rate in pH 4.7/5.7 (%)	Growth rate in pH 8.7/5.7 (%)	Growth rate in salt 6%/0% (%)	Growth rate in salt 8%/0% (%)	Growth rate in salt 10%/0% (%)	Gas production from Glucose	Growth in 45 ^{0}C	Growh in 15^{0}C
R11	29.25±1 ^{ab*}	77±1.3^b	53.80±1.8^a	64.49±3.3^a	24.08±1.27^a	13.42±1.65^a	-	+	+
R21	29.7± 1.5 ^{ab}	70.60±5.7^c	53.49±5.6^a	61.52±2.3^a	16.40±1.40^b	11.26±1.90^{ab}	-	+	+
R31	32.29±1.2^a	80.22±3.6^a	53.24±2.5^a	68.59±0.8^a	18.1±1.11^{ab}	10.35±1.6^{ab}	-	+	+
S11	33.7± 1.01 ^{a}	74.8±4.9^b	51.3±3.1^{ab}	63.77±1.8^a	23.11±1.2^a	9.00±0.7^b	-	+	-
R12	27.9±3.5^b	75.2±2.7^b	52.9±2.6^{ab}	55.4±0.4^b	24.50±3.2^a	15.25±1.7^a	-	+	+
R22	29.1±1.8^{ab}	68.38±1.6^c	52.2±3.1^{ab}	53.3±1.4^b	14.6±0.4^b	11.27±2.4^{ab}	-	+	+
S12	32.50±2.7^a	79.10±2.6^a	48.30±1.1^c	63.20±0.4^a	16.80±2.3^b	10.75±3.2^{ab}	-	+	-

حروف مختلف در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین براساس آزمون دانکن می‌باشد (P<0.05)، * خطای استاندارد

The different letters in each column shows a significant difference based on Duncan's test (P <0.05), * Standard error

با نتایج به‌دست آمده از توالی‌یابی محصول PCR، سویه‌ها با شماره‌های MG841152، MG841153، MG841154، MG841155، MG841156، MG841157 و MG841158 در بانک ژن NCBI ثبت و در دسترس می‌باشند. شناسایی مولکولی سویه‌های منتخب نشان داد که باکتری‌های مورد مطالعه متعلق به گونه *L. plantarum* بودند. این سویه‌ها با کدهای R11، R12، R21، R22، R31 برای سویه‌های جدا شده از ریشه گیاه *H. ledifolium* و S11، S12 از خاک اطراف دنبلان بیابانی (*T. claveryi*) نامگذاری شدند.

براساس هاله ایجاد شده در روش نشت در آگار، بالاترین میزان مهار کنندگی با قطر هاله ۱۱ میلی‌متر در کنترل عامل بیمارگر گیاهی *P. syringae* و غذازاد *S. aureus* توسط سویه R31 صورت گرفت. نتایج نشان داد که اکثر سویه‌ها قادر به جلوگیری از رشد ریسه‌های قارچ عامل بیماری بوده و اثرات معنی‌داری با احتمال ۹۵ درصد نشان دادند. کمترین و بیشترین میزان رشد ریسه‌های هر چهار قارچ بیمارگر به ترتیب در حضور باکتری‌های R31 با رشد تقریبی ۴۶ میلی‌متر و R11 با رشد تقریبی ۹۰ میلی‌متر بود (جدول ۲). در بررسی فعالیت ضد قارچی، حداکثر نرخ مهار رشد برای قارچ *P. expansum* و *F. solani* به ترتیب ۶۹/۳۷ و ۶۶/۹۹ درصد بود. علاوه بر این، بیشترین بازدارندگی در قارچ *A. niger* توسط سویه R31 انجام شد. در مجاورت ریسه‌های قارچ بیمارگر و باکتری‌ها، تولید اسپور عامل بیماری‌زا (قارچ *P. expansum* و *A. niger*) در مقایسه با شاهد کاهش پیدا کرد که این شرایط برای دو قارچ خاکزاد مورد آزمایش (*V. dahliae* و *F. solani*) فقط به‌صورت کاهش رشد میسلیومی مشاهده گردید. با توجه به قارچ‌های خاکزاد مورد تیمار در این بررسی اثر LAB در مهار رشد عامل پوسیدگی فوزاریومی *F. solani* به‌صورت معنی‌داری در مقایسه با مهار رشد سایر قارچ‌های مورد مطالعه بسیار بیشتر (۶۶/۹۹ درصد) بوده است اما در مورد عامل پژمردگی آوندی *V. dahliae*، سویه *Lactobacillus* اثر بازدارندگی بیشتر در مقایسه با شاهد در خصوص رشد میسلیوم از خود نشان نداد (جدول ۲). این نتایج با بررسی‌های اخیر توسط لوتز و همکاران (2012) که بر روی قارچ خاکزاد انجام شد مورد تأیید قرار می‌گیرد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- میانگین درصد بازدارندگی (IP) از قارچ‌های بیمارگر گیاهی در کشت متقابل با سویه‌های باکتری‌های LAB در محیط کشت MRS agar در دمای ۲۵-۲۷ درجه سانتی‌گراد

Table 2. Average inhibitory percent (IP) of pathogenic fungi in dual culture with LAB bacteria in MRS agar medium at 25-27 °C.

Pathogenic fungi / LAB bacteria	*F. solani*	*A. niger*	*P. expansum*	*V. dahliae*
R11	17.34±2.5^{e*}	16.77±4.2^{e}	3.22±4.4^{d}	1.99±3.3^{d}
R21	66.19±1.6^{b}	23.09±0.3^{d}	23.09±3.2^{b}	6.72±0.4^{d}
R31	66.99±0.5^{a}	58.81±2.6^{a}	69.37±1.7^{a}	22.27±0.5^{a}
S11	71.04±1.2^{a}	49.88±1.7^{b}	66.95±3.1^{a}	28.83±3.1^{a}
R12	16.15±3.7^{a}	25.20±3.3^{d}	10.75±3.6^{c}	12.37±1.5^{b}
R22	25.17±4.5^{d}	38.78±1.9^{c}	26.25±2.9^{b}	10.75±0.9^{b}
S12	30.45±1.6^{c}	17.50±6.8^{e}	13.08±4.5^{c}	9.19±0.5^{c}

حروف مختلف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن می‌باشد (P<0.05)، *: خطای استاندارد

Different letters indicate a significant difference based on Duncan's test (P <0.05), *: Standard error

نتایج مطالعه آزمون شوری نشان داد این باکتری‌ها در محیط با نمک ۸ درصد نیز توانایی زنده ماندن و تکثیر را دارند و احتمالاً می‌توانند به عنوان بیوکنترل در مناطق شور مورد استفاده قرار بگیرند. البته این موضوع بستگی به وجود سایر نمک‌های دیگر موجود در خاک دارد. در گزارشی بافونی و همکاران (2015) اعلام نمودند که تیمار گیاه گندم با *L. plantarum* SLG17 سبب کنترل *F. graminearum* شده که دلیل این ممانعت قارچی، تولید اسیدهای آلی بوده است. باکتری *L. plantarum* ATCC9019 در نوعی از گیاه نی سبب کاهش تنش شوری با تجمع پرولین، موجب کاهش فعالیت پرولین دهیدروژناز و کاهش فعالیت سوکسینات دهیدروژناز (چرخه کربس) می‌شود (Phoboo *et al*., 2016). آزمون اسید نشان داد این باکتری‌ها اسید استیک و اسید لاکتیک تولید می‌کنند و این یک توانایی بالقوه در این باکتری‌ها است که توانایی زنده‌مانی در شرایط اسیدی (تا pH= ۳/۷) را نیز دارند. اثر ممانعت رشدی این باکتری‌ها بر سایر قارچ‌ها به دلیل تولید متابولیت‌هایی نظیر اسید لاکتیک، اسید استیک و یا فراورده‌های نرمال تخمیر می‌باشد. در این بررسی مشخص شد که سویه‌های جنس *L. plantarum* توانایی فعالیت ضد باکتریایی با بیشترین میزان مهار کنندگی علیه قارچ‌های پس از برداشت (*P. expansum*، و *A. niger*) را داشته و استفاده از LAB موجود در ریزوسفر را به عنوان یک پتانسیل بالقوه برای عوامل کنترل زیستی جهت جلوگیری از خسارات ناشی از قارچ‌های پس از برداشت مشخص می‌نماید. در واقع، بسیاری از قارچ‌ها تولید کننده اسپورهای حساسیت‌زا و زهرابه هستند که مسئول فساد، مسمومیت غذایی و خطرات جدی بهداشتی می‌باشند و همانطور که در این تحقیق مشخص گردید از باکتری‌های *L. plantarum* جدا شده از ناحیه ریزوسفر گیاه *H. ledifolium* و دنبلان بیابانی می‌توان به عنوان یک عامل مهار کننده مثر قارچ *P. expansum* (عامل کپک آبی در سیب) استفاده نمود. در تحقیق کیلی و همکاران (2006) علت حضور این باکتری‌ها در ناحیه ریزوسفر تأثیر ترشحات ریشه عنوان شده است. با این حال شناسایی متابولیت‌های تراوش شده در ناحیه ریزوسفری LAB نیازمند یک برنامه هدفمند جهت بررسی‌های دقیق‌تر در آینده می‌باشد.

References

Aazami, N., Salehi Jouzani, G., Khodaei, Z., Meimandipour, A., Safari, M. & Goudarzvand, M. 2014. Characterization of some potentially probiotic *Lactobacillus* strains isolated from Iranian native chickens. The Journal of General and Applied Microbiology, 60, 215–221.

Ahmadzade, M. 2014. Biological control and probiotic bacteria. Tehran University Press, 341 pp, Tehran.

Archive of SID

www.SID.ir

Baffoni, L., Gaggia, F., Dalanaj, N., Podi, A., Nipoti, P., Pisi, A., Biavati., B. & Di Gioia, D. 2015. Microbial inoculants for the biocontrol of *Fusarium* spp. In durum wheat. Biology Medical Central, Microbiology, 15: 242–252.

Cai, Y., Benno, Y., Ogawa, M., Ohmomo, S., Kumai, S. & Nakase, T. 1998. Influence of *Lactobacillus* spp. from an inoculant and of *Weissella* and *Leuconostoc* spp. from forage crops on silage fermentation. Applied Environmental Microbiology, 64: 2982–2987.

Collado, M.C., Delgado, S., Maldonado, A. & Rodriguez, J.M. 2009. Assessment of the bacteria diversity of breast milk of healthy women by quantitative real time PCR. Letters in Applied Microbiology, 48: 523–28.

Darsanaki, R.K., Rokhi, M.L., Aliabadi, M.A. & Issazadeh, K. 2012. Antimicrobial activities of *Lactobacillus* strains isolated from fresh vegetables. Middle East Journal of Scientific Research, 11: 1216–1219.

Fhoula, I., Najjari, A., Turki, Y., Jaballah, S., Boudabous, A. & Ouzari, H. 2013. Diversity and antimicrobial properties of lactic acid bacteria isolated from rhizosphere of Olive trees and desert truffles of Tunisia. Biomed Research International, 13: 1–14.

Jamali, S. & Banihashemi, Z. 2012. Host and distribution of desert truffles in Iran, based on morphological and molecular criteria. Journal of Agricultural Science and Technology, 14: 1379–1396.

Kiely, P.D., Haynes, J.M. & Higgins, C.H. 2006. Exploiting new systems-based strategies to elucidate plant-bacterial interactions in the rhizosphere. Microbial Ecology, 51: 257–266.

Lutz, M.P., Michel, V., Martinez, C. & Camps, C. 2012. Lactic acid bacteria as biocontrol agents of soil-borne pathogens. Biological Control of Fungal and Bacterial Plant Pathogens, 78, 285- 288.

Ni, K., Wang, Y., Li, D., Cai, Y. & Pang, H. 2015. Characterization, identification and application of lactic acid bacteria isolated from forage paddy rice silage. Plos One, 10: 1–14.

Nisha, G., Rishi, P. & Shukla, G. 2013. *Lactobacillus rhamnosus* GC antagonizes giardia intestinalis induced oxidative stress and intestinal disaccharidases. An experimental study. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 29: 1049–1057.

Phoboo, S., Sarkar, D., Bhowmik, P., Kumar, P. & Shetty, K. 2016. Improving salinity resilience in Swertia chirayita clonal line with *Lactobacillus plantarum*. Canadian Journal of Plant Science, 96: 117–127.

Trias, R., Banears, L., Montesinos, E., & Badosa, E. 2008. Lactic acid bacteria from fresh fruit and vegetables as biocontrol agents of phytopathogenic bacteria and fungi. International Microbiology, 11: 231–236.

Wilson, K. 1987. Preparation of genomic DNA from bacteria. In Current Protocols in Molecular Biology, 2: 1–5.

Archive of SID

www.SID.ir

Antimicrobial properties of *Lactobacillus* bacteria from rhizosphere of *Helianthemum ledifolium* and desert truffle *Terfezia claveryi* soil in Golestan province

Roghaieh Habibi[1], Kamran Rahnama[1], Seyed Esmaeil Razavi[1], Morteza Khomeiri[2], Mohammad Reza Asef[3]

1. Department of Plant Protection, College of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
2. Department of Food Microbiology and Technology, College of Food Industry Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
3. Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Corresponding author: Kamranrahnama1995@gmail.com

Received: Sept., 29, 2018 6(1) 101-106 Accepted: Jan., 06, 2019

Abstract

The widespread use of chemicals and pesticides has always led to risks to the human health, animals, ecological changes and imbalances in environmental sustainability. During this study, sampling was followed by collecting samples of rhizosphere of *Helianthemum ledifolium* and desert truffle surrounding soils in Golestan province, selected 7 strains of gram-positive *Lactobacillus* and catalase-negative which was isolated and identified on PDA, NA and MRS medium. Biochemical tests showed some of the bacterial strains were able to grow in acidic condition from pH 3 to 8 and they were able to tolerate up to 8% salt. Strains were also able to grow at minimum 15 °C and maximum 45 °C and the fermentation of the sugars were tested by the carbohydrate fermentation test. Using the *16S rDNA* gene sequence, different strains of R11, R12, R21, R22, R31, S11 and S12 were identified as *L. plantarum*. In agar well-diffusion test, the highest inhibitory level was significantly observed in *Pseudomonas syringae* and *Staphylococcus aureus* with a diameter of 11 mm by R31 and S11 isolated from *H. ledifolium* root and desert truffle soil, respectively. In antifungal activity, the maximum growth inhibitory for *P. expansum* and *F. solani* were 69.37 and 66.69 percent, respectively. Sporulation reduced in *P. expansum* in comparison to the control. The results based on SAS system and completely randomized design showed that lactic acid bacteria with plant and soil origin could inhibit the growth of pathogenic fungi and bacteria with high spectrum and can be used as safe biocontrol bacteria in post- harvest crop contamination.

Keywords: symbiosis, truffle fungi, *Lactobacillus*, antimicrobial properties, biological control

Archive of SID

www.SID.ir