

ارزیابی استرین‌های *Streptomyces* برای مبارزه بیولوژیکی عامل بوته‌میری طالبی  
(*Phytophthora drechsleri*)  
Evaluation of *Streptomyces* Strains as Biocontrol Agents for Cantaloup Wilt,  
(*Phytophthora drechsleri*)

شب‌نم حیدری فاروقی، حسن‌رضا اعتباریان، و حمیدرضا زمانی‌زاده

مجتمع آموزش عالی ابوریحان دانشگاه تهران و واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی

تاریخ دریافت: ۱۳۸۱/۸/۸

چکیده

حیدری فاروقی، ش.، اعتباریان، ح. ر.، و زمانی‌زاده، ح. ر. ۱۳۸۲. ارزیابی استرین‌های *Streptomyces* برای مبارزه بیولوژیکی عامل بوته‌میری طالبی (*Phytophthora drechsleri*). نهال و بذر ۱۹: ۳۳۱-۳۱۱.

برای بررسی امکان مبارزه بیولوژیکی با بیماری بوته‌میری جالیز که عامل آن قارچ *Phytophthora drechsleri* می‌باشد، ۱۳ استرین *Streptomyces* که هشت استرین آن‌ها از خاک اطراف ریشه بوته‌های جالیز مزارع و گلخانه‌های اطراف ورامین و پنج استرین که قبلاً از خاک اطراف ریشه فلفل جدا شده بود مورد استفاده قرار گرفت. برای بررسی اثر آنتاگونیستی استرین‌ها در آزمایشگاه، از روش کشت متقابل و سلوفان استفاده شد. نتایج نشان داد که همه استرین‌های *Streptomyces* در روش کشت متقابل و سلوفان رشد عامل بیماری را کاهش دادند و این کاهش رشد در استرین‌های مختلف متفاوت بود. درصد کاهش رشد در روش متقابل بین ۳۳/۰۱ تا ۹۳/۰۷ درصد و در روش سلوفان بین ۳۶/۱۸ تا ۱۰۰ درصد متغیر بود. در شرایط گلخانه کاربرد مخلوط استرین‌های *Streptomyces* روی سبوس گندم به نسبت ۵ گرم به ازای یک کیلوگرم خاک که با مخلوط شش استرین *P. drechsleri* آلوده شده بود موجب شد که تعداد گیاهان سالم ۴۳/۰۷ درصد نسبت به شاهد آلوده افزایش یابد. آغشته کردن بذر طالبی با مخلوط سوسپانسیون استرین‌های *Streptomyces* به میزان متوسط  $10^6 \times 7/3$  اسپور در هر بذر نیز موجب افزایش درصد گیاهان سالم به میزان ۵۰/۲۱ درصد گردید. جمعیت *Streptomyces* در طول رشد گیاه تقریباً به صورت یکنواختی کاهش یافت.

واژه‌های کلیدی: طالبی، *Streptomyces*، *Phytophthora drechsleri*، مبارزه بیولوژیکی.

## مقدمه

بیماری بوته‌میری جالیزی که عامل آن *Phytophthora drechsleri* Tucker می‌باشد. به گیاهان مختلف جالیزی از قبیل خیار، خربزه، طالبی، هندوانه و کدو (ارشاد و مستوفی‌پور، ۱۳۴۸) حمله می‌کند و در مناطق مختلف ایران شایع است (ارشاد، ۱۳۷۴). عامل بیماری در صورت وجود شرایط مساعد می‌تواند بوته‌ها را در تمام مراحل رشد مورد حمله قرار دهد و سبب مرگ و از پای در آمدن آن‌ها شود. در صورتی که عامل بیماری در مرحله گیاهچه گیاه را مورد حمله قرار دهد محل حمله قارچ باریک و نرم می‌گردد و گیاه از بین می‌رود. در مرحله بعدی رشد، بوته‌های مورد حمله ناگهان پژمرده شده و در حالتی که برگ‌ها سبز هستند می‌خشکند که آن را به اصطلاح سبز خشک می‌نامند (اعتباریان، ۱۳۸۱؛ ارشاد و مستوفی‌پور، ۱۳۴۸). علوی (۱۳۵۲) خسارت بیماری را ۲۰ تا ۲۵ درصد تخمین زده است. در زراعت‌های کرتی اصفهان خسارت بوته‌میری حتی تا صد درصد کل بوته‌های مزرعه نیز برآورد شده است (بهداد، ۱۳۵۹). آماربرداری‌هایی که در سال ۱۳۵۵ از ۶۰ مزرعه جالیزی در مناطق ورامین و گرمسار به عمل آمد، نشان داد که ۳۵ درصد بوته‌های طالبی، ۲۵ درصد بوته‌های خیار، ۱۲ درصد بوته‌های خربزه، ۳ درصد بوته‌های هندوانه و یک درصد بوته‌های کدو در بیماری از بین رفته بودند (اعتباریان، گزارش منتشر نشده). در سال‌های اخیر با گسترش کشت

گلخانه‌ای این محصولات، بیماری در گلخانه نیز خسارت زیادی وارد می‌کند. با توجه به خسارت زیاد بیماری از نظر کمی و کیفی و نظر به این که مبارزه شیمیائی مستلزم هزینه زیاد می‌باشد و مشکلاتی را از نظر بهداشتی فراهم می‌آورد، بررسی امکان مبارزه بیولوژیکی با بیماری مورد توجه قرار گرفته است. یکی از عوامل آنتاگونیستی مؤثر علیه قارچ‌های بیماریزا باکتری‌های *Streptomyces* می‌باشد که در شرایط خشک که امکان تأثیر سایر باکتری‌ها محدود است می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد (Cook and Baker, 1983). برادبنت و همکاران (Broadbent et al., 1971) در یک بررسی بین ۱۰۰ تا ۹۰۰ استرین اکتینومیسست از ۳۰ نمونه خاک از مناطق مختلف استرالیا جدا کردند و اثرات شدید آنتاگونیستی آن‌ها را روی *Sclerotium rolfsii* (Sacc) Cruzi، *Pythium debaryanum* Hesses، *P. ultimum* Trow، *Fusarium oxysporum* Schlect f. sp. *lycopersci* (Sacc). Snyder et Hans. و *Phytophthora parasitica* Dastur بررسی دیگر تأثیر *Streptomyces* spp. برای کنترل *P. cinamomi* در مزرعه بررسی شد و نتایج نشان داد که افزودن *Streptomyces* spp. به خاک تا شش ماه موجب جلوگیری از گسترش عامل بیماری در خاک می‌شود

مرکبات مؤثر بود. این آنتاگونیست‌ها بین ۷۶ تا ۱۰۰ درصد قادر به کلنیزاسیون ریشه‌های فلفل، گوجه‌فرنگی و مرکبات بودند (Nemec et al., 1996). قارچ کش بیولوژیکی به صورت تجاری به نام مایکواستاپ (Mycostop) در فنلاند تهیه شده است. این ماده به صورت پودر و تابل تهیه شده است و با روش افزودن به خاک یا تیمار بذر علیه *Fusarium spp.* روی گندم، میخک، ژربرا، گیاهان جالیزی و *Botrytis cinerea* روی کاهو مؤثر است (Mohammadi, 1994). در این بررسی فعالیت آنتاگونیستی چند استرین *Streptomyces* که از اطراف ریشه بوته‌های فلفل منطقه ویرجینیا در جنوب استرالیا جدا شده بود (اعتباریان و همکاران، ۱۳۷۹) و همچنین چند استرین که از اطراف ریشه‌های جالیز منطقه ورامین به دست آمد علیه قارچ *P. drechsleri* مورد مطالعه قرار گرفته است.

#### مواد و روش‌ها

در این بررسی از اسـترین‌های Pd6, Pd5, Pd4, Pd3, Pd2, Pd1 قارچ *Phytophthora drechsleri* (حیدری فاروقی، ۱۳۸۰) استفاده گردید.

برای جداسازی *Streptomyces* از گلخانه و مزارع مختلف منطقه ورامین بازدید به عمل آمد و در هر مزرعه یا گلخانه ۵ نمونه خاک به صورت تصادفی به ابعاد  $15 \times 15 \times 15 \text{ cm}^3$  از ناحیه اطراف ریشه گیاهان سالم بالغ تهیه و کاملاً با هم مخلوط گردید و در کیسه‌های

(Munnecke, 1984). از گونه *S. parvullus* آنتی‌بیوتیکی ضدقارچی استخراج گردید که علیه *P. Capsici Leonian* عامل پوسیدگی ریشه و طوقه فلفل مؤثر بود (Lee et al., 1990). همچنین ماده Concanamycin B که از *S. neyagawaensis* به دست می‌آید نیز در کنترل بیماری فوق مؤثر بوده است (Kim et al., 1993). ماده Tubercidin نیز که از استرین *S. violaceoniger* A50 به دست می‌آید در کنترل این قارچ در شرایط آزمایشگاه مؤثر می‌باشد (Hwang and Kim, 1995). از همین استرین سه آنتی‌بیوتیک جداسازی و خالص‌سازی گردید که خاصیت ضدقارچی علیه *Magnaporthe grisea P. Capsici* و *Rhizoctonia solani* Kuhn داشتند (Hwang and Kim, 1995). در مقالات زیادی از *Streptomyces* ها به عنوان عوامل کنترل گونه‌های *Phytophthora* استفاده شده است (Hardy and Sivasithamparam, 1995;) (Broadbent et al., 1971). محققان اثرات بازدارنده *S. violascens* را در کنترل پوسیدگی فیتوفترایی ریشه اکالیپتوس که در اثر *P. Cinamonai* ایجاد می‌شود (EL- Tarabily et al., 1996) و همچنین اثر *Streptomyces sp.* را در کنترل *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp-Maharla گزارش کرده‌اند (Bolton, 1980). ضمناً گونه *S. griseoviridis* در کاهش پوسیدگی فیتوفترایی ریشه روی

آغشته شد. این اسپورها از سطح محیط کشت ۷ روزه برداشت شده بود. تشتک‌های پتری شاهد، تا نیمه به جای *Streptomyces* با آب مقطر استریل آغشته شد. پس از نگهداری تشتک‌ها در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز، یک قرص به قطر ۶ میلی‌متر از حاشیه کشت سه روزه عامل بیماری در طرف دیگر تشتک‌ها به فاصله یک سانتی‌متر از لبه قرار داده شد. تشتک‌ها در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. رشد شعاعی عامل بیماری در فاصله‌های زمانی ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶ و ۱۲۰ ساعت پس از مایه‌زنی اندازه‌گیری و یادداشت شد. درصد بازداري از رشد *Ph. drechsleri* با توجه به شاهد در فاصله ۹۶ ساعت بعد از مایه‌زنی به دست آمد و همچنین پس از ۷ روز منطقه بازداري (Inhibition zone) در اطراف کلنی *Streptomyces* اندازه‌گیری شد. آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی شامل ۱۳ تیمار در چهار تکرار انجام شد. داده‌های به دست آمده از درصد بازداري پس از تبدیل با استفاده از  $\text{Arc Sin } \sqrt{y}$  (درصد بازداري =  $y$ ) در محاسبات آماری منظور شدند (Little and Hills, 1978). تجزیه آماری با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و گروه‌بندی تیمارها با استفاده از آزمون چنددامنه دانکن ( $P < 0.01$ ) انجام شد.

#### روش سلفون

در این آزمایش ورقه‌های سلفون (به قطر ۹۰ میلی‌متر) که لابلای کاغذهای صافی گذاشته

پلاستیکی مصرف نشده به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌های خاک به مدت ۷ روز روی میز آزمایشگاه قرار داده شدند تا کاملاً خشک شدند. به منظور کاهش باکتری‌ها و قارچ‌های همراه، نمونه‌های خاک خشک شده به مدت ۲ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند (Ensign, 1991; William *et al.*, 1972). از روش سری رقت و با استفاده از محیط کشت انتخابی (Dhingra and Sinclair, 1995) Casein Glycerol Medium (CGM) جداسازی صورت گرفت و شناسائی تا حد جنس انجام شد (Ensign, 1991). علاوه بر استرین‌های به دست آمده از آزمایش فوق از ۵ استرین با نام‌های A13، A15، A20، A24 و STL که از خاک اطراف ریشه‌های فلفل در گلخانه نزدیک ویرجینیا در جنوب استرالیا جدا شده بودند استفاده شد (Etebarian *et al.*, 2000؛ Istifadah, 1997؛ Na Lampang, 1994).

بررسی اثر آنتاگونیستی جدایه‌های *Streptomyces* روی قارچ عامل بیماری بونه‌میری جالیز در آزمایشگاه

#### روش کشت متقابل

در این آزمایش از تشتک‌های به قطر ۹ سانتی‌متر حاوی ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت 1/5M32 (Sivasitham *et al.*, 1979) استفاده شد. نیمی از سطح محیط کشت به وسیله لوب سترون کاملاً با اسپورهای *Streptomyces*

هر روز به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در اتوکلاو سترون شد. از کشت ۱۰ روزه استرین‌های *Streptomyces* روی محیط کشت CGM برای افزودن به ارلن‌مایرها استفاده گردید. برای هر ارلن نصف محیط کشت از یک تشتک پتری ۹ سانتی‌متری که پوشیده از کلنی *Streptomyces* بود اضافه شد. ارلن‌مایرها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته نگهداری شدند.

در این آزمایش از مخلوط استرین‌های STL، A24، A20، A15، A13، S3NA، S1IA و S1IB، S1IC، S3B، SE، S2VF استفاده گردید. بدین ترتیب که مقدار مساوی از هر ۱۳ جدایه با هم مخلوط و به نسبت ۵ گرم به ازای یک کیلوگرم خاک اضافه شد. تیمارها عبارت بودند از: شاهد غیرآلوده، شاهد آلوده، شاهد غیرآلوده + سبوس گندم سترون، مخلوط استرین‌های *Streptomyces* به تنهایی، مخلوط استرین‌های *Streptomyces* + *P. drechleri* ضمناً با استفاده از روش سری‌رقت (*dilution method*) جمعیت *Streptomyces* تعیین گردید. بدین ترتیب که ابتدا میزان یک گرم از مخلوط جدایه‌ها توزین شد و از رقت  $10^{-7} \times 1$  مقدار یک میلی‌لیتر روی محیط CGM به طور یکنواخت پخش شد. تعداد شش تشتک پتری برای تعیین CFU (تعداد کلنی باکتری *Streptomyces* رشد کرده از یک گرم مایه باکتری) استفاده شد. تعداد کلنی‌های ظاهر شده پس از ۱۴ روز شمارش گردید.

شده بودند در آب مقطر به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار  $\frac{1}{2}$  اتمسفر اتوکلاو گردید. سپس روی تشتک‌های حاوی محیط کشت M32  $\frac{1}{5}$  قرار داده شدند و به وسیله لوپ سترون سطح ورقه‌های سلوفان با اسپورهای ۷ روزه کشت استرین‌های *Streptomyces* کاملاً آغشته شد. تشتک‌های پتری در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز نگهداری و سپس کاغذ سلوفان برداشته شد و یک قرص به قطر ۶ میلی‌متر از کشت ۳ روزه عامل بیماری در مرکز تشتک‌ها قرار داده شد. تشتک‌ها دوباره در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. قطر کلنی عامل بیماری در فاصله زمانی ۲۴ ساعت تا زمان پر شدن سطح تشتک‌های شاهد اندازه‌گیری و درصد بازدارداری در زمان‌های ۷۲، ۹۶ و ۱۴۴ ساعت پس از مایه‌زنی در مقایسه با شاهد به دست آمد. تجزیه آماری شبیه آزمایش قبلی بود.

بررسی اثر جدایه‌های *Streptomyces* در کنترل

بیماری بوته‌میری جالیز

افزودن مخلوط مایه استرین‌های *Streptomyces* به خاک

برای تهیه مایه *Streptomyces* سبوس گندم در کیسه پارچه‌ای ریخته شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در آب خیسانده و با فشردن آن آب اضافی خارج گردید. معادل حجم ۵۰۰ سانتی‌متر مکعب سبوس مرطوب در ارلن‌مایرهای یک لیتری ریخته و سه روز متوالی

هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ۴ دقیقه ضدعفونی گردید و تعداد ۶ بذر در هر گلدان کاشته شد. گلدان‌ها در تناوب نوری ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی نگهداری شدند. دمای روز حداکثر ۲۷ و حداقل ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دمای شب حداکثر ۲۲ و حداقل ۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. به هر گلدان روزانه حدود ۲۰ میلی‌لیتر آب داده شد. تعداد گیاهچه‌های سالم و ارتفاع گیاهچه‌ها ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۵۰ روز پس از کاشت شمارش و اندازه‌گیری شد.

آغشته کردن بذر با مخلوط سوسپانسیون

#### استرین‌های *Streptomyces*

در این بررسی از اس‌ترین‌های *Streptomyces* که قبلاً ذکر شد استفاده گردید. اس‌ترین‌های *Streptomyces* ده روز قبل روی محیط CGM کشت و در انکوباتور با دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ روز نگهداری شدند. جهت تهیه سوسپانسیون *Streptomyces* مقدار ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون به تشتک پتری اضافه شد و با لوب سترون سوسپانسیونی از اسپور تهیه گردید و رقت تقریبی  $10^8 \times 1$  اسپور در میلی‌لیتر برای ۱۳ اس‌ترین تهیه شد (Bolton, 1978). بذر طالبی سبز ورامین پس از ضدعفونی به مدت ۳۰ دقیقه در سوسپانسیون اسپور *Streptomyces* نگهداری شدند و سپس برای خشک شدن زیر هود قرار داده شدند (Jones and Samac, 1996). برای تعیین cfu

برای تهیه مایه *P. drechsleri*، میزان ۱۰۰ گرم لوبیا سفید در ارلن‌مایر ۵۰۰ میلی‌لیتر ریخته شد و به هر ارلن ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و در سه روز متوالی هر روز به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر سترون گردید. پس از سرد شدن به هر ارلن‌مایر ۴ قطعه از محیط کشت آرد ذرت آگار (CMA) حاوی میسلیم عامل بیماری، به قطر ۶ میلی‌متر اضافه گردید و در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ روز در انکوباتور نگهداری گردید. مایه قارچ *P. drechsleri* به نسبت ۵ گرم بیه ازای یک کیلوگرم خاک به نسبت مساوی از هر شش اس‌ترین (Pd1, Pd2, Pd3, Pd4, Pd5, Pd6) اضافه شد و برای تعیین cfu مایه تلقیح یک گرم از مخلوط مایه تلقیح اس‌ترین‌های فوق توزین و رقت  $10^{-3} \times 1$  از آن تهیه شد و میزان یک میلی‌لیتر از این رقت روی محیط انتخابی BNPRAH (Masago, 1977) به صورت یکنواخت پخش شد. تعداد ۶ تشتک پتری برای این منظور در نظر گرفته شد و تعداد کلنی‌های ظاهر شده پس از یک هفته شمارش گردید. آزمایش در قالب یک طرح کامل تصادفی شامل ۵ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. هر تکرار شامل یک گلدان به قطر ۹ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۳ سانتی‌متر بود. خاک گلدان‌های آزمایشی (۱ قسمت خاک مزرعه + ۳ قسمت خاک برگ) سه بار در سه روز پی در پی اتوکلاو شد. بذر طالبی سبز ورامین پس از ضدعفونی با

فرمول فوق در محاسبات آماری منظور شد. در مورد ارتفاع گیاهچه داده‌های اصلی در محاسبات آماری منظور گردید. گروه‌بندی تیمارها با استفاده از آزمون چنددامنه دانکن انجام شد (Little and Hills, 1978).

### نتایج

#### جداسازی استرین‌های *Streptomyces*

کلنی‌های *Streptomyces* پس از ۳ تا ۴ روز روی محیط CGM شروع به رشد کردند. پس از کشت خالص استرین‌ها با استفاده از کلیدهای (Ensing, 1991; Barnett and Hunter, 1972) هشت استرین جداسازی و S1IB، S1IA، S3NA، S2VF، S3B، SE، S1ID، S1IC نامگذاری شدند (جدول ۱).

براساس کلید ذکر شده و مشاهده کلنی‌های فشرده و کوچک روی محیط‌های آگاردار، وجود میسلیم‌های بسیار ظریف در سطح محیط کشت در اطراف کلنی‌ها، وجود میسلیم‌های هوایی، وجود زنجیری از اسپورها روی میسلیم‌های هوایی و انتشار بوی خاک، جدایه‌های به دست آمده به جنس *Streptomyces* تعلق داشتند. همچنین رنگ میسلیم‌های هوایی و میسلیم‌های رویشی که در سطح محیط کشت رشد کردند و رنگ پیگمان‌های انتشاری استرین‌ها در محیط کشت، روی محیط کشت‌های CGM و M32  $\frac{1}{5}$  کمی متفاوت بود. کلنی‌ها به رنگ‌های سفید، خاکستری و قهوه‌ای بودند. همچنین تمام

(تعداد کلنی باکتری *Streptomyces* از باکتری‌های چسبیده به هر بذری) در هر نمونه سه بذر انتخاب و هر بذر در یک لوله حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون انداخته شد و به مدت یک دقیقه روی دستگاه شیکر قرار داده شد. سپس از هر لوله با روش سری رقت، رقت  $10^{-4}$  تهیه گردید و میزان یک میلی‌لیتر از این رقت روی محیط CGM پخش شد و در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد نگهداری و تعداد کلنی‌ها پس از ۷ و ۱۴ روز شمارش گردید. سایر مراحل کار گلدانی شامل تهیه خاک و افزودن مایه گلدانی *P. drechsleri* مشابه قسمت قبل بود. تعداد گیاهچه‌های سالم و ارتفاع گیاهچه ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۵۰ روز پس از کاشت شمارش و درصد گیاهچه‌های سالم ۲۰ روز پس از کشت تعیین شد. ضمناً وزن خشک و تر بوته‌های طالبی ده هفته پس از کاشت محاسبه گردید و cfu آنتاگونیست و عامل بیماری ۷، ۴۲ و ۵۶ روز پس از کاشت با روش ذکر شده انجام شد.

#### تجزیه آماری

در آزمایش‌هایی که در محیط کشت انجام گردید از طرح کاملاً تصادفی استفاده گردید و درصد کاهش رشد با توجه به مساحت کلنی تعیین گردید و درصدهای به دست آمده پس از تبدیل  $\text{ArcSin} \sqrt{x}$  مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. در آزمایش‌های گلخانه‌ای نیز از طرح کاملاً تصادفی استفاده گردید. درصد گیاهچه سالم پس از تبدیل با استفاده از

جدول ۱- استرین‌های *Streptomyces* به دست آمده از مزارع و گلخانه‌های خیار منطقه ورامین

Table 1. Strains of *Streptomyces* from different cucurbit fields and glasshouses

Orgin	محل جغرافیایی	سال Year	Host	گیاهان میزبان	نام استرین Strain name
Sharifabad (G)	خاک گلخانه، شریف‌آباد	1980	Cucumber	خیار	S11A
Sharifabad (G)	خاک گلخانه، شریف‌آباد	1980	Cucumber	خیار	S11B
Sharifabad (G)	خاک گلخانه، شریف‌آباد	1980	Cucumber	خیار	S11C
Sharifabad (G)	خاک گلخانه، شریف‌آباد	1980	Cucumber	خیار	S11D
Sharifabad (F)	خاک مزرعه، شریف‌آباد	1980	Cantaloup	طالبی	SE
Karimabad (G)	خاک گلخانه، کریم‌آباد	1980	Cucumber	خیار	S3B
Karimabad (G)	خاک گلخانه، کریم‌آباد	1980	Cucumber	خیار	S2VF
Karimabad (G)	خاک گلخانه، کریم‌آباد	1980	Cucumber	خیار	S3NA

G: Greenhouse

F: Field

رشد میسلیم عامل بیماری داشت. استرین A24 با ۸۶/۲۸ درصد بازداری در گروه دوم و استرین‌های A20 و S11B به ترتیب با ۷۲/۳۷ و ۷۱/۴۳ درصد بازداری در گروه سوم قرار گرفتند. ضمناً میانگین فاصله بازداری در S11D بیشترین میزان بازداری را داشت و همچنین استرین A24 با ۱۶/۵ میلی‌متر در درجه دوم اهمیت قرار داشت.

بررسی اثر *Streptomyces* روی رشد قارچ عامل

بیماری به روش سلوفان

بین استرین‌های *Streptomyces* از نظر ترشحات مایع خارج سلولی در جلوگیری از رشد میسلیم عامل بیماری به احتمال ۹۹/۹ درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت (جدول ۴). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها در جدول ۵ مشاهده می‌شود. استرین‌های S11B و A24 بیشترین تأثیر را در جلوگیری از رشد

استرین‌ها دارای پیگمان‌های انتشاری در محیط بودند. بر اساس واکنش گرم، تمامی استرین‌ها گرم مثبت بودند. وجود اثر بازداری رشد استرین‌های به دست آمده در تقابل با عامل بیماری (آزمایش کشت متقابل) نشان داد که همه آن‌ها به جنس *Streptomyces* تعلق دارند (Istifadah, 1997).

بررسی اثر *Streptomyces* روی رشد قارچ عامل

بیماری به روش کشت متقابل

همانطوری که در جدول ۲ ملاحظه می‌شود به احتمال ۹۹/۹ درصد در روش کشت متقابل بین استرین‌های *Streptomyces* در جلوگیری از رشد میسلیم *P. drechsleri* اختلاف معنی‌دار وجود داشت که مقایسه میانگین‌ها در جدول ۳ مشاهده می‌شود. همانطوری که از این جدول استنباط می‌گردد استرین S11D با ۹۳/۰۷ درصد بازداری بیشترین تأثیر را در جلوگیری از



جدول ۲- تجزیه واریانس اثر استرین‌های *Streptomyces* در ممانعت از رشد میسلیوم *P. drechsleri* با روش کشت متقابل

Table 2. Analysis of variance of the effects *Streptomyces* strains on growth inhibition of *P. drechsleri* (Dual culture)

منبع تغییرات S. O. V.	درجه آزادی d.f.	درصد بازداری از رشد میسلیوم % Growth inhibition			حلقه بازداری Inhibition zone		
		SS	MS	F	SS	MS	F
Streptomyces strains	استرین‌ها 12	4826.017	402.168	83.558***	2367.00	197.250	45.790***
Error	خطای آزمایشی 39	187.708	4.813		168.00	4.308	
Total	کل 51	5013.752			2535.00		
C. V. %			3.96			21.85	

\*\*\* = P < 0.001

جدول ۳- تأثیر استرین‌های *Streptomyces* در جلوگیری از رشد میسلیوم *P. drechsleri* با روش کشت متقابل

Table 3. Effect of *Streptomyces* strains on growth inhibition of *P. drechsleri* (Dual culture)

<i>Streptomyces</i> strains	میانگین درصد بازداری از رشد % Growth inhibition	میانگین حلقه بازداری Inhibition zone (mm)
S11D	93.07 a	26.75 a
A24	86.28 b	16.50 b
A20	72.37 c	9.50 c
S11B	71.43 c	11.25 c
STL	69.55 cd	10.25 c
S11A	69.42 cd	11.25 c
S11C	68.85 cd	11.25 c
A13	68.47 cd	9.00 c
S3B	66.81 cd	8.25 c
SE	66.65 cd	6.75 c
A15	63.23 d	2.75 d
S2VF	41.63 e	0.00 d
S3NA	33.01 f	0.00 d

Data are means of four replicates.

اعدادی که در متن جدول آمده‌اند میانگین چهار تکرار هستند.

میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف مختلف نشان داده شده‌اند با آزمون چنددامنه دانکن در سطح (P<0.01) اختلاف معنی دار دارند.

Means within columns followed by different letters, differ significantly (P < 0.01) according to Duncan's Multiple Range test.

جدول ۴. تجزیه واریانس مربوط به اثر ترشحات مایع خارج سلولی استرین‌های *Streptomyces* در جلوگیری از رشد *P. drechsleri* در زمان‌های مختلف پس از مایه‌زنی با روش سلوفان

Table 4. Analysis of variance of the effects of cell free metabolites of *Streptomyces* strains on growth inhibition of *P. drechsleri* at different times after inoculation (Cellophane overlay)

S. O. V.	درجه آزادی	۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی			۹۶ ساعت پس از مایه‌زنی			۱۴۴ ساعت پس از مایه‌زنی		
		SS	MS	F	SS	MS	F	SS	MS	F
<i>Streptomyces</i> strains	12	21661.861	1805.155	2700.410***	21875.468	1822.956	906.165***	14718.522	1226.544	416.749***
Error	39	26.071	26.071		78.457	2.012		114.782	2.943	
Total	51	2994.244			33720.997			14833.304		
C. V. %			1.08			1.86			2.27	

\*\*\* P = < 0.001

Fungistasis دارد. عامل بیماری روی محیط تازه در مقایسه با شاهد دو روز دیرتر رشد کرد و در مقایسه با شاهد که تشتک پتری ۹ سانتی‌متری را ۵ روزه می‌پوشاند، ۷ روزه تشتک پتری را پوشاند. همچنین ترشحات مایع خارج سلولی استرین‌های A13، A20، STL، S3B و SE موجب شد که میسلیوم‌های رشد کرده بسیار ظریف و نازک شوند و به طور کلی در مقایسه با شاهد تراکم میسلیوم‌ها کمتر بود.

میسلیوم عامل بیماری داشته و با ۱۰۰ درصد بازداری از نظر آماری در گروه اول قرار گرفتند. قرص *Ph. drechsleri* در استرین‌های S11B و A24 که بعد از برداشت سلوفان به هیچ وجه رشد نکرده بود پس از انتقال به محیط کشت تازه، توانایی رشد داشتند. رشد عامل بیماری روی محیط تازه نشان‌دهنده این است که مواد ترشحی از *Streptomyces* به محیط کشت خاصیت قارچ‌کشی ندارد بلکه خاصیت

جدول ۵- تأثیر ترشحات مایع خارج سلولی استرین‌های *Streptomyces* در جلوگیری از رشد میسلیوم *P. drechsleri* در زمان‌های مختلف پس از مایه‌زنی با روش سلوفان

Table 5. Effect of cell free metabolites of *Streptomyces* strains on growth inhibition of *P. drechsleri* different times after inoculation (cellophane overlay)

<i>Streptomyces</i> strains	میانگین درصد بازداری از رشد % Growth inhibition		
	72 h	96 h	144 h
S11B	100.00 a	100.00 a	100.00 a
A24	100.00 a	100.00 a	100.00 a
S11C	99.49 b	99.72 b	99.87 ab
S11D	99.39 b	99.96 b	99.84 ab
S11A	99.1 bc	99.5 b	99.77 ab
S2VF	99.1 bc	99.5 b	99.77 ab
SE	99.1 bc	99.43 b	88.08 d
A20	98.56 cd	99.21 b	99.27 b
A13	98.17 d	98.36 c	85.84 d
STL	95.69 e	93.24 c	93.26 c
S3B	95.46 e	95.56 d	91.83 c
A15	42.36 f	29.44 f	48.09 c
S3NA	10.36 g	18.69 g	36.18 f

Data are means of four replicates.

اعدادی که در متن جدول آمده‌اند میانگین چهار تکرار هستند.

میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف مختلف نشان داده شده‌اند با آزمون چنددامنه دانکن در سطح ( $P < 0.01$ ) اختلاف معنی دار دارند.

Means within columns followed by different letters, differ significantly ( $P < 0.01$ ) according to Duncan's Multiple Range test.

معنی دار وجود داشت (جدول‌های ۶ و ۷) که مقایسه میانگین‌ها در جدول ۸ آورده شده است. تیمار شاهد غیرآلوده (شاهد سالم) همراه با سبوس و *Streptomyces* به تنهایی با ۱۰۰ درصد گیاهان سالم از نظر آماری در گروه اول قرار داشتند و تیمار *P. drechsleri* همراه با *Streptomyces* پس از آن‌ها با ۴۳/۰۷ درصد گیاهان سالم در گروه بعدی قرار داشت. تیمار شاهد آلوده با ۱۰۰ درصد تلفات گیاهچه‌های طالبی از نظر آماری در گروه آخر قرار دارد. ارتفاع گیاه و وزن تر اندام هوایی در شاهد آلوده از سایر تیمارها کمتر بود (جدول ۸).

تأثیر استرین‌های *Streptomyces* در کنترل بیماری بوته‌میری جالیز

افزودن مخلوط مایه استرین‌های *Streptomyces* به خاک در این آزمایش جمعیت (cfu/g) مخلوط مایه استرین‌های *Streptomyces*  $10^{11} \times 5$ ، جمعیت پروپاگول *P. drechsleri* (cfu/g) در مخلوط مایه استرین‌ها  $10^8 \times 2$  و pH خاک در ابتدای آزمایش ۶/۷۲ بود. به احتمال ۹۹/۹ درصد بین تیمارهای مورد بررسی از نظر گیاهان سالم و ارتفاع گیاهچه در ۲۰ روز پس از کاشت، وزن تر و خشک اندام هوایی اختلاف

جدول ۶- تجزیه واریانس اثر استرین‌های *Streptomyces* در وقوع بیماری بوته‌میری طالبی در روش

افزودن مخلوط مایه استرین‌های *Streptomyces* به خاک

Table 6. Analysis of variance of the effects of *Streptomyces* strains on incidence of cantaloupe wilt (soil treatment test)

S. O. V.	منبع تغییرات	d.f.	SS	MS	F
<i>Streptomyces</i>	جدایه	3	16844.652	5614.884	506.831***
Error	خطای آزمایشی	8	88.627	11.078	
Total	کل	11	16933.279		

C.V. = % 5.97

\*\*\* = P < 0.001

جدول ۷- تجزیه واریانس اثر استرین‌های *Streptomyces* در میزان وزن تر و خشک اندام‌های هوایی در

روش افزودن مخلوط مایه استرین‌ها به خاک

Table 7. Analysis of variance of the effects of the mixture of *Streptomyces* strains on plant height and dry and fresh weight (soil treatment test)

S. O. V.	منبع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع گیاه			وزن تر اندام هوایی			وزن خشک اندام هوایی		
			Plant height	Fresh weight	Dry weight	SS	MS	F	SS	MS	F
Treatment	تیمار	4	126.900	31.748	15.049***	17.304	4.326	54.908***	1.215	0.304	7.157**
Error	خطای آزمایشی	10	21.096	2.110		0.788	0.079		0.424	0.042	
Total	کل	14	148.087			18.092			1.639		

C.V. %

13.57

9.87

17.00

\*\* = P < 0.001

\*\*\* = P < 0.001

جدول ۸- تأثیر مخلوط استرین های *Streptomyces* در کنترل بیماری بوته میری طالبی (تیمار خاک)  
 Table 8. Effects of the mixture of *Streptomyces* strains on control of cantaloup wilt (soil treatment test)

تیمار Treatments	درصد گیاهان سالم % Healthy plant	ارتفاع گیاهچه ها Plant height (cm)	وزن تر Shoot fresh weight (g)	وزن خشک Shoot dry weight (g)
Healthy control	شاهد غیر آلوده	—	13.47 a	10.64 a
Infected control	شاهد آلوده	0 c	5.13 b	0 b
Healthy control + bran	شاهد غیر آلوده+سبوس	100 a	11.87 a	10.98 a
<i>Streptomyces</i>		100 a	11.89 a	11.16 a
<i>P. drechsleri</i> + <i>Strotomyces</i>		43.07 b	10.81 a	10.62 a

Data are means of three replicates.

اعدادی که در متن جدول آمده اند، میانگین سه تکرار هستند.

میانگین هایی که در هر ستون با حروف مختلف نشان داده شده اند با آزمون چنددامنه دانکن در سطح  $P < 0.01$  با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند.

Significant differences are denoted by different letters within each column ( $P < 0.01$ ).

سالام در تیمارهای مختلف در جدول ۱۱  
 ملاحظه می شود.

میانگین درصد گیاهان سالم در شاهد آلوده  
 صفر، در شاهد غیر آلوده + سبوس و  
*Streptomyces* به تنهایی ۱۰۰ درصد و در  
 تیمار *Streptomyces* + *P. drechsleri* ۵۰/۲۱  
 درصد بود. میانگین وزن خشک، وزن تر،  
 ارتفاع گیاه در تیمار شاهد آلوده کمتر از سایر  
 تیمارها بود (جدول ۱۱).

آغشته کردن مخلوط استرین های *Streptomyces*  
 به بذر

میانگین cfu/g مخلوط استرین های  
*Streptomyces* چسبیده به بذر  $7/3 \times 10^1$  و  
 جمعیت *P. drechsleri* در مخلوط مایه  
 استرین ها  $2/8 \times 10^0$  cfu/g بود. به احتمال ۹۹/۹  
 درصد بین تیمارها از نظر درصد گیاهان سالم و  
 ارتفاع گیاهچه ها و وزن تر و خشک اندام هوایی  
 اختلاف معنی دار وجود داشت. (جدول های ۹ و  
 ۱۰). میانگین ارتفاع گیاهچه ها و درصد گیاهان

جدول ۹- تجزیه واریانس اثر استرین های *Streptomyces* در وقوع بیماری بوته میری طالبی در روش  
 آغشته کردن بذر به سوسپانسیون مخلوط استرین ها

Table 9. Analysis of variance of the effects of *Streptomyces* strains on incidence of cantaloup wilt (seed treatment test)

S. O. V.	منبع تغییرات	d.f.	SS	MS	F
<i>Streptomyces</i>	استرین ها	3	16415.796	5471.932	596.720***
Error	خطای آزمایشی	8	73.360	9.170	
Total	کل	11	16489.156		

C.V. = % 5.26

\*\*\* =  $P < 0.001$

جدول ۱۰- تجزیه واریانس اثر مخلوط استرین های *Streptomyces* در میزان ارتفاع گیاه و وزن تر و خشک اندام های هوایی در روش افزودن مخلوط استرین ها به خاک

Table 10. Analysis of variance of the effects of the mixture of *Streptomyces* strains on plant height and dry and fresh weight of shoot (soil treatment test)

منبع تغییرات S. O. V.	درجه آزادی d.f.	ارتفاع گیاه Plant height			وزن تر اندام هوایی Fresh weight			وزن خشک اندام هوایی Dry weight			
		SS	MS	F	SS	MS	F	SS	MS	F	
Treatment	تیمار	4	170.969	42.742	67.389***	36.364	9.091	68.639***	2.187	0.547	21.754**
Error	خطای آزمایشی	10	6.343	0.634		1.324	0.132		0.251	0.025	
Total	کل	14	177.311			37.689			1.639		
C. V. %				6.98			9.76			11.23	

\*\* = P < 0.01

\*\*\* = P < 0.001

جدول ۱۱- تأثیر مخلوط استرین های *Streptomyces* در کنترل بیماری بوته میری طالبی (تیمار بذر)  
Table 11. Effects of the mixture of *Streptomyces* strains on control of cantaloupe wilt (seed treatment test)

تیمار Treatments	درصد گیاهان سالم % healthy plant	ارتفاع گیاهچه ها Plant height (cm)	وزن تر Shoot fresh weight (g)	وزن خشک Shoot dry weight (g)
Healthy control	شاهد غیر آلوده	13.60 a	23.71 a	2.23 a
Infected control	شاهد آلوده	0 c	0 b	0 b
Healthy control + bran	شاهد غیر آلوده + سیوس	13.00 a	23.29 a	1.91 a
<i>Streptomyces</i>	100 a	13.51 a	16.65 a	1.64 a
<i>P. drechsleri</i> + <i>Strotomyces</i>	50.21 b	12.91 a	16.10 a	1.8 a

Data are means of three replicates.

اعدادی که در متن جدول آمده اند، میانگین سه تکرار هستند.

میانگین هایی که در هر ستون با حروف مختلف نشان داده شده اند با آزمون چنددامنه دانکن در سطح  $P < 0.01$  با یکدیگر اختلاف معنی دار دارند.

Significant differences are denoted by different letters within each column ( $P < 0.01$ ).

طول دوره رشد گیاه در هر دو آزمایش کاهش یافت. در هیچ یک از آزمایش ها موردی از افزایش جمعیت *Streptomyces* در خاک دیده نشد. جمعیت *P. drechsleri* در طول دوره رشد در هر دو آزمایش تقریباً ثابت مانده است.

#### بحث

در بررسی اثر استرین های *Streptomyces* در روش کشت متقابل از میان ۱۳ استرین مورد

جمعیت *P. drechsleri* و *Streptomyces* در آزمایش گلخانه ای جمعیت عامل بیماری و آنتاگونیست در آزمایش اضافه کردن مخلوط مایه استرین های *Streptomyces* به خاک و روش آغشته نمودن *Streptomyces* به بذر در جدول های ۱۲ و ۱۳ مشاهده می شود. میانگین جمعیت *Streptomyces* تقریباً به صورت یکنواختی در

کیلوگرم خاک و همچنین ۵ گرم مایه قارچ *P. drechsleri* به خاک موجب شد گیاهان سالم در مقایسه با شاهد ۴۳/۰۷ درصد افزایش یابند (جدول ۱۰). مطالعات انجام شده در بررسی اثر مخلوط استرین‌های A15، A20، A13، S1 و A22 به خاک آلوده به *P. erythroseptica* Pethybr موجب کاهش معنی‌داری در تعداد بوته‌های آلوده به عامل بیماری گردید (اعتباریان و همکاران، ۱۳۷۹).

آغشته کردن بذر به سوسپانسیون مخلوط استرین‌های *Streptomyces* به میزان  $10^6 \times 7/3$  cfu در هر بذر موجب افزایش گیاهان سالم به میزان ۵۰/۲۱ درصد شد و در مقایسه با روش افزودن به خاک نتایج بهتری داشت. افزایش درصد گیاهان سالم در آزمایش‌های گلخانه‌ای در مقایسه با شاهد آلوده در هر دو روش نشان داد که متابولیت‌های بازدارنده *P. drechsleri* در خاک تولید شده‌اند. تولید آنتی‌بیوتیک توسط استرین‌های *Streptomyces* در محیط فقیر آب آگسار (Lingapa and Lockwood, 1961) و خاک سترون (Rothrock and Gottlieb, 1984) گزارش شده است. جمعیت عامل بیماری در طول رشد در سه نوبت اندازه‌گیری، کاهش نیافت و حتی در مرحله آخر اندازه‌گیری (۵۶ روز پس از کاشت) افزایش جزئی نشان داد. جمعیت *Streptomyces* در طول رشد در سه مرحله تقریباً به طور یکنواخت کاهش یافت. نتایج به دست آمده با نتایج بررسی جمعیت

بررسی ۱۱ استرین *Streptomyces* توانائی آنتاگونیستی زیادی در برابر *P. drechsleri* داشتند. منطقه بازداری بین کلنی عامل بیماری و *Streptomyces* در ۱۱ استرین مشاهده شد. منطقه بازداری ایجاد شده می‌تواند مربوط به اثر مواد بازدارنده‌ای باشد که توسط استرین‌ها تولید می‌شود و موجب ممانعت از رشد *P. drechsleri* می‌گردد. وجود و اندازه منطقه بازداری می‌تواند دلیلی بر تولید آنتی‌بیوتیک به وسیله استرین‌های مذکور باشد (Jones and Samac, 1996; Rothrock and Gottlieb, 1981; Yuan and Crawford, 1995). احتمال دیگر این است که استرین‌های *Streptomyces* مذکور مواد غذایی موجود در آن ناحیه را مصرف کرده باشند. هسو و لاک‌وود (Hsu and Lockwood, 1969) در منطقه بازداری ایجاد شده در اطراف کلنی‌های *Streptomyces* که فاقد آنتی‌بیوتیک هستند در اثر کاهش سریع سطوح گلوکز و اسید گلوتامیک در محیط کشت آگاردار است.

در آزمایش اثر ترشحات مایع خارج سلولی در روش سلوفان، کشت ۷ روزه استرین‌های S1IB و A24 روی ورقه‌های سلوفان موجب ۱۰۰ درصد بازداری *P. drechsleri* شد که می‌تواند به دلیل تولید مواد ضدقارچی به وسیله این دو استرین باشد.

افزودن مایه قارچ مخلوط استرین‌های *Streptomyces* به میزان ۵ گرم به ازای یک

جدول ۱۲- جمعیت‌های *P. drechsleri* و *Streptomyces* در آزمایش اضافه کردن مخلوط مایه استرین‌های *Streptomyces* به خاک  
 Table 12. Populations of *P. drechsleri* and *Streptomyces* in soil treatment test

تیمارها Treatments	۷ روز پس از کاشت		۴۲ روز پس از کاشت		۵۶ روز پس از کاشت	
	<i>P. drechsleri</i>	<i>Streptomyces</i>	<i>P. drechsleri</i>	<i>Streptomyces</i>	<i>P. drechsleri</i>	<i>Streptomyces</i>
Healthy control	—	—	—	—	—	—
Pathogen control	شاهد آورده (1.66±1.03) 10 <sup>3</sup>	—	(1.66±2.88) 10 <sup>3</sup>	—	(2.66±2.08) 10 <sup>3</sup>	—
Healthy control + bran	—	—	—	—	—	—
<i>Streptomyces</i>	شاهد غیر آورده + سیوس —	(9.99±2.48) 10 <sup>6</sup>	—	(7.2±0.85) 10 <sup>5</sup>	—	(8.33±1.15) 10 <sup>4</sup>
<i>P. drechsleri</i> + <i>Streptomyces</i>	(1.33±0.57) 10 <sup>5</sup>	(5.46±2.65) 10 <sup>5</sup>	(2±2) 10 <sup>3</sup>	(4.4±0.45) 10 <sup>5</sup>	(2±1.73) 10 <sup>5</sup>	(7.66±1.52) 10 <sup>4</sup>
Data are means of three replicates.						
± Standard error						

جدول ۱۳- جمعیت‌های *P. drechsleri* و *Streptomyces* در آزمایش آغشته کردن بذر به سویسپانسیون استرین‌های *Streptomyces*  
 Table 13. Populations of *P. drechsleri* and *Streptomyces* in seed treatment test

تیمارها Treatments	۷ روز پس از کاشت		۴۲ روز پس از کاشت		۵۶ روز پس از کاشت	
	<i>P. drechsleri</i>	<i>Streptomyces</i>	<i>P. drechsleri</i>	<i>Streptomyces</i>	<i>P. drechsleri</i>	<i>Streptomyces</i>
Healthy control	—	—	—	—	—	—
Pathogen control	شاهد غیر آورده (1.33±2.3) 10 <sup>2</sup>	—	(1.33±1.52) 10 <sup>3</sup>	—	(2.33±3.21) 10 <sup>3</sup>	—
Healthy control + bran	—	—	—	—	—	—
<i>Streptomyces</i>	شاهد غیر آورده + سیوس —	(4.6±0.6) 10 <sup>5</sup>	—	(8.33±0.57) 10 <sup>4</sup>	—	(8.33±0.57) 10 <sup>4</sup>
<i>P. drechsleri</i> + <i>Streptomyces</i>	(1±1.73) 10 <sup>3</sup>	(8.86±0.75) 10 <sup>5</sup>	(1.66±2.88) 10 <sup>3</sup>	(9±1) 10 <sup>4</sup>	(2.33±2.51) 10 <sup>3</sup>	(1±1) 10 <sup>4</sup>
Data are means of three replicates.						
± Standard error						



استرین‌های فوق نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد. از سوی دیگر به نظر می‌رسد به تحقیقات بیشتری در مورد شناخت مواد آلی مناسب جهت تهیه مایه استرین‌های فوق و یا مواد مناسب جهت پوشش بذر نیاز است تا بتوان بهترین نتیجه را در حفظ جمعیت جدایه‌ها در خاک و کنترل بیماری به دست آورد. مطالعه بیشتر در مورد مکانیسم تأثیر شناسایی متابولیت‌های آنتاگونیست‌ها در سطح مولکولی، شناسایی آنزیم‌ها و سایر متابولیت‌ها و بررسی امکان انتقال ژن‌های مؤثر به گیاهان میزبان می‌تواند گامی مهم به سوی کنترل بهتر بیماری باشد.

#### سپاسگزاری

نگارندگان از مدیریت مجتمع آموزش عالی ابوریحان و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تهران و مجتمع آزمایشگاهی واحد علوم و تحقیقات، همچنین از سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی که بودجه و امکانات لازم را در اختیار قرار داده‌اند تشکر می‌نمایند.

#### References

- منابع مورد استفاده
- ارشاد، ج. ۱۳۷۴. قارچ‌های ایران. انتشارات سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شماره ۱۰. ۸۷۴ صفحه.
- ارشاد، ج.، و مستوفی پور، پ. ۱۳۴۸. بوته‌میری جالیز در ایران. بیماری‌های گیاهی ۵ (۲): ۴۵-۳۸.
- اشرفی‌زاده، ا. ۱۳۸۰. بررسی امکان کنترل بیولوژیک قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* پایان‌نامه کارشناسی ارشد. واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی. ۱۸۸ صفحه.

*Streptomyces* در محیط بدون خاک برای کنترل *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp مطابقت داشت (Bolton, 1980).

مقاومت *Streptomyces* به خشکی (McBride and Ensign, 1987) و عدم تأثیر قارچ‌کش‌ها روی آن‌ها امتیازی برای این آنتاگونیست‌ها در کنترل تلفیقی است (Istifadah, 1997). با توجه به نتایج به دست آمده از آنتاگونیست‌های مؤثر در این بررسی به ویژه در کشت‌های گلخانه‌ای جالیز در منطقه امکان استفاده از این آنتاگونیست‌ها علیه بیماری‌های رایج منطقه و رامن امکان‌پذیر است. از آنجائی که این آنتاگونیست‌ها در کنترل پژمردگی فوزاریومی خربزه و طالبی در اثر *F. Oxysporum* f. sp. *melonis* (L. & C.) Snyder and Hansen (اشرفی‌زاده، ۱۳۸۰) و ساق‌سوسیه خربزه در اثر قارچ *Macrophomina phaseoli* (Etebarian, 2000) نیز مؤثر بوده‌اند می‌تواند در کنترل تلفیقی علیه این سه عامل بیماریزا مؤثر باشند. به هر حال تولید انبوه و تجاری

- اعتباریان، ح. ر. ۱۳۸۱. بیماریهای سبزی و صیفی و روش های مبارزه با آنها. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ دوم. ۶۰۰ صفحه.
- اعتباریان، ح. ر.، اسکات، آ.، و ویک، ت. ۱۳۷۹. ارزیابی جدایه های *Streptomyces* برای مبارزه بیولوژیکی علیه پوسیدگی صورتی سیب زمینی و پوسیدگی ریشه و طوقه گوجه فرنگی. خلاصه مقالات چهاردهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. دانشگاه صنعتی اصفهان. صفحه ۹۶.
- بهداد، ا. ۱۳۵۹. بیماریهای گیاهان زراعی ایران. چاپ نشاط اصفهان. ۴۲۳ صفحه.
- حیدری فاروقی، ش. ۱۳۸۰. بررسی امکان کنترل بیولوژی با عامل بوته میری جالیز. پایان نامه کارشناسی ارشد. واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی. ۲۰۶ صفحه.
- علوی، ا. ۱۳۵۲. بیماری بوته میری جالیز. بیماریهای گیاهی: ۹: ۴۹-۳۷.

- Barnett, H. L., and Hunter, B. B. 1972.** Illustrated Genera of Imperfect Fungi. (3rd edition). Burgess Publishing Company. 241pp.
- Bolton. A. T. 1978.** Effects of amending soilless mixtures with soil containing antagonistic organisms on root rot and blackleg of Geranium (*Pelargonium hortorum*) caused by *Pythium splendens*. Canadian Journal of Plant Science 58: 379-383.
- Bolton, A. T. 1980.** Control of *Pythium aphanidermatum* in poinsettia in a soilless culture by *Trichoderma viride* and a *Streptomyces* sp. Canadian Journal of Plant Pathology 2: 93-95.
- Broadbent, K. F., Baker, K. F., and Waterworth, Y. 1971.** Bacteria and Actinomycetes antagonistic to fungal pathogens in Australian soils. Australian Journal of Biological Science 24: 925-944.
- Cook, R. J., and Baker, K. F. 1983.** The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 539 pp.
- Dhingra, D. O., and Sinclair, J. B. 1995.** Basic Plant Pathology Methods. Second edition. Lewis Publishers, Boca Raton, London. 435 pp.
- El-Tarabily, K. A., Sykes, M. L., Kurböke, I. D., Hardy, G. E. St. J., Barbosa, A. M., and Dekker, R. F. H. 1996.** Synergistic effects of a cellulase-producing *Micromonospora carbonacea* and an antibiotic-producing *Streptomyces violascens*

- on the suppression of *Phytophthora cinnamomi* root rot of *Banksia grandis*. Canadian Journal of Botany 74: 618-624.
- Ensign, J. C. 1991.** Introduction to the *Actinomycetes*. pp. 811-815. In: Balows, A., Truper, H.G., Dworking, M., Harder, W., and Schleifer, K. H. (eds.). The Prokaryotes, a handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications. 2nd ed. Volume I. Springer-Verlag, Berlin.
- Etebarian, H. R., Scott, E. S., and Wicks, T. J. 2000.** *Trichoderma harzianum* T39 and *T. virens* DAR 74290 as potential biological control agents for *Phytophthora erythroseptica*. European Journal of Plant Pathology 106: 329-337.
- Etebarian, H. R. 2002.** Evaluation of *Streptomyces* isolates for biological control of Charcoal rot of melon. Abstract, 26th International Horticultural Congress, Toronto, Canada, S08-p-41A.
- Hardy, G. E. St. J., and Sivasithamparam, K. 1995.** Antagonism of fungi and Actinomycetes isolated from composted eucalyptus bark to *Phytophthora drechsleri* in a steamed and non-steamed composted eucalyptus bark-amended container medium. Soil Biology and Biochemistry 27: 243-246.
- Hsu, S. C., and Lockwood, J. L. 1969.** Mechanism of inhibition of fungi in agar by *Streptomyces*. Journal of General Microbiology 57: 149-158.
- Hwang, B. k., and Kim, B. S. 1995.** *In vivo* efficacy and *in-vitro* activity of Tubercidin, and antibiotic Nucleoside, for control of *Phytophthora capsici* blight in *Capsicum annuum*. Pesticide Sciences 44: 255-260.
- Istifadah, N. 1997.** Antagonistic potential of Actinomycetes to control *Sclerotium rolfsii* Sacc. Msc. Thesis, Department of Crop Protection. The University of Adelaide, Adelaide, South Australia.
- Jones, C. R., and Samac, D. A. 1996.** Biological control of fungi causing alfalfa seedling damping-off with a disease-suppressive strain of *Streptomyces*. Biological Control 7: 196-204.
- Kim, C. J., Lee, I. K., Yun, B. S., and Yoo, I. D. 1993.** Concanamycin B, active substance against *Phytophthora capsici* produced by *Streptomyces neyagawensis* 38D10 Strain. Korean Journal of Applied Microbiology and Biotechnology 21, 4: 322-328.

- Lee, I. K., Kim, C. J., Kim, S. D., and Yoo, I. D. 1990.** Antifungal antibiotic against fruit rot disease of red pepper from *Streptomyces parvullus*. Korean Journal of Applied Microbiology and Biotechnology 18 (2): 142-147.
- Lingappa, B. T., and Lockwood, J. L. 1961.** The nature of widespread soil fungistasis. Journal of General Microbiology 26: 473-485.
- Little, T. M., and Hills, F. J. 1978.** Agricultural Experimentation Design and Analysis. John Willey and Sons Inc. New York, U. S. A. 349pp.
- Massago, H., Yoshikawa, M., Fukada, M., and Nakanishi, N. 1977.** Selective inhibition of *Pythium* spp. On a medium for direct isolation of *Phytophthora* spp. from soils and plant. Phytopathology 67: 425-428.
- McBride, M. J., and Ensign, J. C. 1987.** Effects of intracellular trehalose content on *Streptomyces griseus* spores. Journal of Bacteriology 169: 4995-5001.
- Mohammadi, O. 1994.** Commercial development of Mycostop biofungicide. pp. 282-284. In; Ryder, M. H., Stephens, P. M., and Bowen, G. D. (eds.). Improving Plant Productivity with Rhizosphere Bacteria. CSIRO, Australia (Coted by Istifadeh, 1997).
- Munnecke, D. E. 1984.** Establishment of micro-organism, in fumigated avocodo soil attempt to prevent re-invasion of the soils by *Pytophthora cinnamomi*. Transactions of the British Mycological Society 83: 287-294.
- Na Lampang, A. 1994.** Study on interaction between *Sclerotium rolfsii* Sacc. and selected antagonists. Ph. D. Thesis, The University of Adelaide, Adelaide, South Australia.
- Namec, S., Datnoff, L. E., and Strandberg, J. 1996.** Efficacy of biocontrol agents in planting mixes to colonize plant roots and control root diseases of vegetables and citrus. Crop Protection 15: 735-742.
- Rothrock, C., and Gottlieb, D. 1981.** Importance of antibiotic production in antagonism of selected *Streptomyces* species to two soil-borne plant pathogens. The Journal of Antibiotics 34: 830-835.
- Rothrock, C., and Gottlieb, D. 1984.** Role of antibiosis in antagonism of *Streptomyces hygroscopicus* var. *geldanus* to *Rhizoctonia solani* in soil. Candian Journal of Microbiology 30: 1440-1447.

- Sivasithamparam, K., Parker, C. A., and Edwards, C. S. 1979.** Rhizosphere microorganisms of seminal and root nodal of wheat grown in pots. *Soil Biology and Biochemistry* 11: 155-160.
- Williams, S. T., Shaemullah, M., Watson, E. T., and Mayfield, C. I. 1972.** Studies on the ecology of *Actinomycetes* in soil. IV. The influence of moisture tension on growth and survival. *Soil Biology and Biochemistry* 4: 215-225.
- Yuan, W. M., and Crawford, D. L. 1995.** Characterisation of *Streptomyces lydicus* WYEC108 as a potential biocontrol against fungal root and seed rots. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 3119-3128.

---

آدرس نگارندگان:

شبنم حیدری فاروقی و حمیدرضا زمانی زاده- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران.  
حسن رضا اعتباریان- گروه گیاهپزشکی، مجتمع آموزش عالی ابوریحان، صندوق پستی ۴۱۱۷-۱۳۶۵، تهران.