Archive of SID
بیماریهای گیاهی، جلد ٤١، ١٣٨٤

تاثیر باکتریهای آنتاگونیست روی *Sclerotinia sclerotiorum* عامل کپک سفید کلزا*

Effect of antagonistic bacteria on *Sclerotinia sclerotiorum*, the causal agent of white mold in oilseed rape

سیده‌لیلا اکبری‌کیارودی، مصطفی نیک‌نژادکاظم‌پور، سیدعلی الهی‌نیا و سیداکبر خداپرست**

دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان، بترتیب استادیار، دانشیار و استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان

دریافت ١٣٨٣/٩/١٧ پذیرش ١٣٨٤/٤/١٥

چکیده

در این تحقیق تاثیر تعدادی از جدایه‌های باکتریائی آنتاگونیست علیه *Sclerotinia sclerotiorum* عامل کپک سفید کلزا جداسازی شده از منطقه رستم‌آباد استان گیلان مورد بررسی قرار گرفت و در مجموع ٩٨ جدایه باکتریائی از منطقه ریزوسفر کلزای آلوده با قارچ فوق‌الذکر جداسازی شد. ١٢ جدایه از این باکتریها با استفاده از روش کشت متقابل (Dual culture) در مقابل قارچ مذکور از خود خاصیت آنتاگونیستی بروز دادند. از این تعداد ٨ جدایه متعلق به باکتریهای گرم منفی و ٤ جدایه متعلق به باکتریهای گرم مثبت بودند. نتایج حاصل از آزمونهای افتراقی جهت تشخیص جنس جدایه‌های آنتاگونیست نشان داد که جدایه‌های P13، P34، P14، P9، P26، P43، P45 و P6 گونه *Pseudomonas fluorescens*

* قسمتی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول ارائه شده به دانشگاه گیلان

** مسئول مکاتبه

www.SID.ir

Archive of SID

پکتینولیتیک (Pectolytic) و جدایه‌های B24، B20 و B2 گونه *Bacillus cereus* و جدایه B10 بعنوان *Bacillus subtilis* تشخیص داده شدند.

در آزمایش تاثیر ترکیبات فرار جدایه‌های آنتاگونیست سودوموناس و باسیلوس در بازداری از رشد ریسه‌ای قارچ *S. sclerotiorum* مشخص گردید که کلیه جدایه‌ها قادر به جلوگیری از رشد قارچ مذکور بودند. ترشحات مایع برون یاخته‌ای و آنتی‌بیوتیک این جدایه‌ها نیز از رشد ریسه‌ای قارچ مذکور ممانعت بعمل آورد. از سوی دیگر تمامی جدایه‌های *P.fluorescens* روی محیط کشت King's B محتوی ۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومول کلریدآهن تولید سیدروفور نموده و از رشد *Geotrichum candidum* ممانعت بعمل آوردند.

واژه‌های کلیدی: کلزا، کپک‌سفید ،*S. sclerotiorum*، باکتریهای آنتاگونیست، مبارزه بیولوژیکی

مقدمه

کلزا با نام علمی *Brassica napus* به انگلیسی Rapeseed نامیده می‌شود. گیاه کلزا مورد حمله آفات و بیماریهای زیادی قرار می‌گیرد که یکی از مهمترین بیماریهای آن پوسیدگی سفید ساقه ناشی از *Sclerotinia sclerotiorum* می‌باشد (*آلیاری و شکاری*، ۱۳۷۹).

این قارچ یکی از پلی‌فاژترین عوامل بیماریزای گیاهی است که دامنه میزبانی وسیع آن، قدرت بیماریزایی شدید در شرایط مساعد و توانایی بسیار زیاد اسکلروت‌های آن برای مقاومت در برابر شرایط نامساعد موجب گردیده که در روی بسیاری از محصولات کشاورزی عامل بیماریزای بسیار خطرناکی شود و به بیش از ٤٠٠ گونه گیاهی حمله نماید (Luis 2001).

استفاده از انواع روشهای مبارزه زراعی مانند سوزاندن بقایای گیاهی، آیش و تناوب، آفتابدهی خاک و غیره برای کنترل بیماریهای ناشی از *S. sclerotiorum* روی محصولات مختلف با درجات مختلفی از موفقیت همراه بوده است (Singh 2001). کاربرد ارقام مقاوم نیز در همه موارد امکان‌پذیر نیست. هرچند که مبارزه شیمیایی با بیماریهای ناشی از قارچ مذکور به ویژه در محصولاتی که از ارزش اقتصادی بالایی برخوردارند اجتناب‌ناپذیر است ولی خطر ظهور جدایه‌های مقاوم به قارچکش و آلودگی محیط‌زیست را به همراه دارد.

مجموعه تجربیات فوق لزوم بررسی بیشتر روی سایر روشها از جمله استفاده از ارقام

www.SID.ir

Archive of SID

مقاوم و روشهای مفید دیگری که خطر کمتری برای محیط‌زیست داشته باشند را بیش از پیش آشکار ساخته است که از آنجمله می‌توان مبارزه بیولوژیک را نام برد. با وجود این، کنترل عوامل بیماریزای خاکزی به ویژه آنهایی که مایه آنها به صورت هوازی قادرند گیاه را آلوده نمایند از مشکلترین موارد مبارزه با بیماریهای گیاهی محسوب می‌گردند و علیرغم استفاده از روشهای شیمیایی، فیزیکی، زراعی و غیره برای کنترل آنها در موارد متعدد خسارات قابل توجهی ایجاد نموده‌اند.

استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک بخصوص عوامل باکتریایی زمینه مناسبی برای مبارزه با قارچ *S. sclerotiorum* می‌باشد. سودوموناس‌های فلورسنت از جمله باکتریهای آنتاگونیستی هستند که تولید آنتی‌بیوتیک (Fravel 1988) سیدروفورهای نوع سودوباکتین (Schippers *et al.* 1987)، سیانید هیدروژن (Bakker *et al.* 2002) و آنزیم پروتئاز (Keel & Defago 1997) می‌کنند که از مهمترین مکانیسم‌های مؤثر در کنترل عوامل بیماریزای گیاهی توسط این باکتریها به شمار می‌روند. باکتری‌های آنتاگونیست جنس باسیلوس نیز با تولید آنتی‌بیوتیک (Loffer *et al.* 1986)، ترشحات خارج از سلولی (Hotel et al. 1998) و ترکیبات فرار (Baker 1987)، در بازدارندگی عوامل بیماریزای قارچی مؤثرند. اثر آنتاگونیستی باکتریهای *Bacillus polymixa* و *B.subtilis* روی *S.sclerotiorum* به اثبات رسیده است (Oedjijon *et al.* 1993). جدایه B8 , *B.polymixa* مانع از رشد *S.sclerotiorum* روی محیط آب آگار می‌گردد (Yuen *et al.* 1991). جدایه‌های AB-2 و AB-27، گونه *B. subtilis* نیز روی *S. sclerotiorum* اثر آنتاگونیستی دارند (Basim *et al.* 1990). جدایه‌های AP-12، AP-3، AP-51 و AP-114، *B.cereus* نیز قادرند از رشد میسلیومی *S. sclerotiorum* تا ۸۳٪ جلوگیری نمایند (Lazzaretti *et al.* 1994). جدایه *B. cereus,* alf-87-A با تولید ترکیبات فرار مانع از رشد ریسه‌ای و جوانه‌زنی آسکوسپورهای *S. sclerotiorum* می‌گردد (Huang *et al.* 1993). جدایه PA-23، *Pseudomonas chloraphis* با تولید سه آنتی‌بیوتیک فنازین-۱- کربوکسیلیک اسید، ۲ هیدروکسی-فنازین-۱- کربوکسیلیک اسید و ۲- هیدروکسی فنازین مانع از رشد میسلیومی، تولید ساختارهای زمستان‌گذران و همچنین مانع از جوانه‌زنی آسکوسپورهای *S. sclerotiorum* در شرایط آزمایشگاه می‌شود. این جدایه در شرایط گلخانه نیز

www.SID.ir

Archive of SID

کـــاملا مـــانع از جوانـــه‌زنـــی آسکوســـپورهای قـــارچ *S. sclerotiorum* مـــی‌گـــردد (Savchuk *et al.* 2001). جدایـه UW85 , *B. cereus* نیـز تولیـد آنتـی‌بیوتیـک زویترمایسـین آ (Zwittermicin A) می‌نماید که کـه در شـرایط آزمایشـگاه جلـوی رشـد *S. sclertiorum* را تـا ۵۰٪ در مقایسـه بـا شـاهد مـی‌گیـرد (Laura *et al.* 1998). جدایـه *P. fluorescens,* WB1 جـزء ریزوباکترهای بهبود دهنده رشد گیاه (PGPR یا Plant Growth Promoting Rhizobacteria) است که منجر به کاهش پژمردگی ناشی از *S. sclerotiorum* مـی‌گـردد (Arndt *et al.* 1998). تـاکنون تاثیر باکتریهای آنتاگونیست در کنترل *S. sclerotiorum* روی گیاهان مختلف در جهان به اثبات رسیده است. هدف از این بررسی جداسازی باکتریهای آنتاگونیست از مـزارع کلـزا در اسـتان گیلان و بکارگیری آنها در کنترل کپک سفید کلزا تحت شرایط آزمایشگاه می‌باشد.

روش‌های بررسی

جداسازی قارچ *S. sclerotiorum*

به‌منظور جداسازی قارچ مذکور، گیاهان کلزای آلوده از مزارع رستم‌آبـاد واقـع در اسـتان گیلان جمع‌آوری گردیده، به آزمایشگاه انتقال داده شدند. ابتدا ریشه، طوقه و ساقه این گیاهان به مدت ۳ دقیقه با جریان ملایم آب شسته شدند. سپس قطعاتی به طول ۰/۵-۱ سـانتی‌متـر از قسمتهای آلوده آنها تهیـه و بـه مـدت ۳۰ ثانیـه در محلـول هیپوکلریـت‌سـدیم یـک درصـد ضدعفونی سطحی شد. این قطعات سه بار (هر بار ۱۰ دقیقه) در آب مقطر سترون شستشو و در تشتک‌های پتری به قطر ۹ سانتیمتر حاوی محیط کشت PDA (عصاره سیب‌زمینـی، قنـد و آگار) کشت داده شدند. تشتک‌های پتری به مدت ٤ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گـراد قـرار داده شدند. پس از رشد قارچ و تشخیص آن اقدام به خالص‌سـازی آن گردیـد و بـرای انجـام کارهای بعدی در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

ایجاد فرم جنسی در قارچ *S. sclerotiorum*

به منظور ایجاد فرم جنسی *S. sclerotiorum* از دو روش استفاده گردید.

روش پاترسون و گروگان (Patterson & Grogan 1985)

ابتدا ۱۰ لوله آب‌آگار یک درصد تهیه و و سپس با استفاده از پنس سترون اسکلروت‌هـای *S. sclerotiorum* به دست آمده از کشت ۲۰ روزه جدا و به تعداد ۲ عدد در هر لوله قـرار داده

www.SID.ir

Archive of SID
شدند. لوله داخل یک کیسه پلی‌اتیلنی شفاف گذاشته و تحت شرایط محیط طبیعی خارج از آزمایشگاه نگهداری شدند.

روش باغبانی مهماندار و همکاران (۱۳۸۱)

در این روش اسکلروت‌های قارچ ابتدا به مدت ۳ ماه در دمای صفر درجه سانتیگراد نگهداری شدند، سپس در داخل گلدان‌های حاوی ورمیکولیت سترون با رطوبت اشباع و همچنین در لوله‌های حاوی آب آگار (ژل آگار) بک درصد در دمای ۱۰ درجه سانتیگراد و با طول دوره نوری ۱٦ ساعت قرار گرفتند.

اثبات بیماریزایی *S. sclerotiorum* روی ارقام PF70459k, option500، هایولا۴۰۱ و هایولا ۳۰۷ کلزا

برای این منظور ابتدا با استفاده از روش *کریت لوو* و همکاران (Kreit Low 1949) ۳۰۰ گرم بذر جو همراه با ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر در فلاسکهای نیم لیتری سترون گردیدند. سپس در هر یک از فلاسک‌ها یک دیسک به اندازه ۵ میلیمتر از کشت ۵ روزه *S. sclerotiorum* قرار گرفت. برای تیمار شاهد، جهت مخلوط نمودن با خاک تنها از بذر جو سترون استفاده گردید. فلاسک‌های تلقیح شده به مدت ۱۵ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند پس از این مدت میسلیوم قارچ *S. sclerotiorum* به خوبی روی دانه‌های جو رشد کرده و تولید اسکلروت و مایه تلقیح نمود. مایه قارچ بدست آمده به نسبت ۱۰ درصد حجمی با یک سوم خاک قسمت فوقانی تعدای گلدان (با قطر دهانه ۱۲ سانتی‌متر) مخلوط گردید و سپس در هر گلدان ۰/۱ گرم بذر کلزا کاشته شد. این آزمایش در ۳ تکرار انجام شد و گلدانها پس از کاشت در شرایط گلخانه نگهداری شدند و بطور طبیعی آبیاری شدند.

جداسازی باکتریهای آنتاگونیست از خاک

نمونه‌برداری و جدا سازی باکتری‌های آنتاگونیست از خاک

سه نمونه خاک از منطقه ریزوسفر تعدادی گیاه کلزای آلوده از مناطق مختلف استان گیلان جمع‌آوری و به آزمایشگاه انتقال داده شدند. نمونه‌های جمع‌آوری شده از ۱۰ گیاه با یکدیگر مخلوط و یک گرم از هر نمونه خاک مخلوط شده در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون به حالت سوسپانسیون درآورده شد، از این سوسپانسیون رقتهای مختلف آن بطور سریال تهیه گردید. صد میکرولیتر از هر رقت درتشتک‌های پتری محتوی محیط کشت آگار مغذی (NA) کشت گردید و در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٨ ساعت نگهداری شد. کلنی‌هائی که از نظر

www.SID.ir

Archive of SID
شکل و رنگ در محیط آگار مغذی متفاوت بودند انتخاب و در درون لوله، خالص‌سازی گردیدند.

بررسی ایجاد هاله بازدارندگی توسط جدایه‌های باکتریایی

جدایه‌های باکتری بصورت لکه‌ای به فواصل مساوی از مرکز تشتک‌های پتری و به فاصله ۱ سانتی‌متر از حاشیه آنها در چهار طرف تشتک‌های پتری حاوی محیط‌کشت Na+PDA (Expert 1995)، مایه‌زنی شدند و سپس دیسکی به قطر پنج میلی‌متر از کشت ۵ روزه قارچ *S. sclerotiorum* در مرکز آنها قرار داده شد. در پتری شاهد، فقط از آب مقطر سترون استفاده گردید. این تشتک‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و پس از ۱۲ روز که حاشیه پرگنه قارچ در تشتکهای پتری شاهد به دیواره پتری برخورد نموده بود، فواصل بازدارندگی بین جدایه‌های باکتری و حاشیه پرگنه قارچ اندازه‌گیری گردیدند.

آزمونهای افتراقی جهت تشخیص جدایه‌های باکتریایی آنتاگونیست

جدایه‌های انتخاب شده در بررسی ایجاد هاله (P6, P9, P13, P14, P26, P34, P42, P45, B10, B20, B21, B24) طبق آزمونهای زیر مورد مقایسه قرار گرفتند.

واکنش گرم، آزمون رشد هوازی و بی‌هوازی، تولید رنگدانه فلورسانت روی محیط‌کشت King's B، رنگ‌آمیزی اسپور، هیدرولیز نشاسته، ژلاتین، آرژنین و آرابینوز، آزمون استفاده از سیترات، آزمون کاتالاز، ایندول، لیسیتیناز، احیاء نیترات تست فوق‌حساسیت و رشد در نمک طعام، آزمون تولید لوان، لهانیدن سیب‌زمینی، آزمون اکسیداز، سیترات، هیدرولیز کازئین و ال- لیزین (L-Lysin) به روش *شاد* (Schaad 2001) انجام شد. و برای انجام آزمون SRS از روش (Luisetti & Gaignard 1987) استفاده گردید.

بررسی مکانیسم تأثیر جدایه‌های باکتریایی آنتاگونیست روی قارچ *S. sclerotiorum* در شرایط آزمایشگاه

بررسی تأثیر ترکیبات فرار ضد قارچی

این آزمایش مطابق روش *فیدامن و روزال* (Fiddaman & Rossall 1994) به دو صورت کشت همزمان و ۷۲ ساعته جدایه‌های آنتاگونیست با قارچ *S. sclerotiorum* انجام شد.

در کشت همزمان ابتدا ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون جدایه‌های باکتری با غلظت ۱×۱۰^{۸} سلول باکتری در میلی لیتر در سطح محیط‌کشت NA پخش گردید و به طور همزمان

www.SID.ir

Archive of SID

حلقه‌هایی از حاشیه کشت پنج روزه قارچ اسکلروتینیا در مرکز تشتک‌های پتری حاوی محیط کشت PDA کشت گردیدند سپس با رعایت شرایط سترون، تشتک‌های پتری حاوی قارچ بطور وارونه روی تشتک‌های پتری حاوی جدایه‌های آنتاگونیست قرار داده شدند و لبه تشتک‌های پتری توسط نوار پارافیلم کاملا مسدود گردیده، در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد به مدت یک هفته نگهداری شدند. در تشتک‌های پتری شاهد فقط حلقه‌ای از محیط کشت PDA حاوی قارچ اسکلروتینیا در مقابل تشتک پتری حاوی NA بدون باکتری آنتاگونیست قرار داده شد در کشت جدایه‌های آنتاگونیست ۷۲ ساعت قبل از *S. sclerotiorum* نیزمانند آزمایش قبلی انجام گرفت با این تفاوت که باکتریهای آنتاگونیست ۷۲ ساعت قبل از قارچ کشت گردیدند این آزمون درچهارچوب طرح کاملا" تصادفی در ۱۳ تیمار با ۳ تکرار انجام شد. رشد شعاعی ریسه قارچ اندازه‌گیری و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت ودرصد بازدارندگی از رشد ریسه‌ای اسکلروتینیا با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید.

x۱۰۰ قطر رشد پرگنه شاهد / (قطر رشد پرگنه تیمار – قطر رشد پرگنه شاهد) = درصد بازدارندگی از رشد

بررسی تأثیر ترشحات مایع برون یاخته‌ای جدایه‌های باکتریایی آنتاگونیست

این آزمایش براساس روش *سینگ و دوورال* (Singh & Deverall 1984) انجام شد برای این منظور یک توده از هر جدایه آنتاگونیست در درون فلاسک‌های محتوی ۷۰ میلی‌لیتر از محیط کشت مایع سترون با فرمول (۲۵۰ گرم سیب‌زمینی، ۲۰ گرم دکستروز در یک لیتر آب مقطر) کشت داده شد. این فلاسک‌ها روی شیکردورانی با ۷۰ دور در دقیقه در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته قرار گرفتند. عصاره بدست‌آمده به مدت ۲۰ دقیقه در ۸۰۰۰x g سانتریفوژ گردید سپس عصاره سانتریفوژ شده هریک از جدایه‌ها بطور جداگانه توسط صافی‌های میکروبیولوژیک ۰/۲۲ میکرونی صاف گردید. عصاره سترون بدست آمده به نسبت‌های ۵، ۱۵ و ۲۵ درصد به محیط کشت PDA اتوکلاو شده و در حالت ذوب اضافه شد و در تیمار شاهد از محیط‌کشت مایع فاقد باکتری که از صافی ۰/۲۲ میکرونی عبور داده شده بود استفاده گردید.

پس از انعقاد محیط کشت، دیسکی به قطر ۵ میلی‌متر از حاشیه کشت ۵ روزه قارچ اسکلروتینیا در مرکز تشتک پتری کشت داده شد. اندازه‌گیری قطر ریسه یک هفته بعد از کشت

www.SID.ir

Archive of SID

که کلنی قارچ تمام سطح تشتک پتری شاهد را پر کرده بود صورت گرفت. این آزمایش در چهارچوب طرح فاکتوریل با ۲ عامل و باطرح پایه کاملا" تصادفی به اجرا درآمد. عامل اول جدایه آنتاگونیست در ۱۲ سطح و عامل دوم غلظت در ۳ سطح بود. برای هریک از غلظتها ۳ تکرار در نظر گرفته شد. قطر رشد ریسه در هر غلظت مورد نظر مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. درصد بازداری از رشد رویشی قارچ از رابطه ذکر شده در بند ۳-۷-۱ محاسبه گردید.

بررسی اثر بازدارندگی متابولیت‌های قابل نفوذ در آگار

این آزمون مطابق روش *کراس و لوپر* (Kraus & Loper 1990) انجام شد بدین‌ترتیب که ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون جدایه‌های آنتاگونیست با غلظت ۱×۱۰^{۸} سلول در میلی‌لیتر و همچنین آب مقطر سترون بعنوان شاهد به محیط کشت NA+PDA اضافه گردیده، توسط میله شیشه‌ای در سطح محیط‌کشت پخش شدند. سپس به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. پس از این مدت با استفاده از لام سترون، کلنی جدایه‌ها از سطح محیط کشت جمع‌آوری و تشتک‌های پتری بطور وارونه به مدت ٤٥ دقیقه در معرض بخار کلروفورم قرار گرفتند. سپس یک دیسک به قطر ۵میلی‌متر از حاشیه کشت پنج روزه قارچ اسکلروتینیا برداشته و با رعایت شرایط سترون، در مرکز هر تشتک پتری کشت داده شد. تشتک‌های پتری در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. اندازه‌گیری قطر رشد ریسه پس از ۷ روز انجام گردید. این آزمایش در چهارچوب طرح کاملا" تصادفی شامل ۱۳ تیمار با ۳ تکرار انجام شد و نتایج به دست آمده از آزمایش مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. درصد بازداری از رشد ریسه‌ای مطابق بند ۷-۱ تعیین گردید.

قدرت تولید سیدروفور

برای انجام این آزمایش در سطح محیط کشت King's B حاوی غلظتهای ۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومول کلریدآهن حفره‌هائی به قطر ۵ میلیمتر تعبیه گردید. سپس از کلیه جدایه‌ها سوسپانسیونی با غلظت ۱×۱۰^{۸} سلول در میلی‌لیتر تهیه و مقدار ۱۰ میکرولیتر از هر سوسپانسیون در درون چاهک‌ها ریخته شد و به مدت ٤٨ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتیگراد نگهداری گردید. سپس سوسپانسیون اسپور قارچ *Geotrichum candidum* با غلظت ۱×۱۰^{٦}

www.SID.ir

Archive of SID

اسپور در میلی‌لیتر بر سطح تشتک‌های پتری حاوی این جدایه‌های آنتاگونیست افشانه شد و قطر هاله‌ای که در اطراف هر چاهک ایجاد شده بود و در آن قارچ *G. candidum* رشد نیافته بود اندازه گیری گردید. این آزمایش در چهارچوب طرح فاکتوریل با دو عامل و با متن کاملا" تصادفی به اجرا درآمد. عامل اول جدایه‌های آنتاگونیست در ۸ سطح و عامل دوم غلظت کلریدآهن در ۳ سطح بود. برای هریک از غلظت‌ها ۳ تکرار در نظر گرفته شد و قطر هاله ایجاد شده در هر غلظت مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتیجه

ویژگیهای قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary

خصوصیات قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* با مشخصات ذکر شده توسط *کوهن* (Kohn 1979) و همچنین مشخصات ذکر شده توسط *ترونـد و آرن* (Trond & Arne 1998) مطابقت داشت.

ایجاد فرم جنسی در قارچ *S. sclerotiorum*

در روش *پاترسون و گروگان* (Patterson & Grogan 1985) پس از گذشت حدود ۷ ماه روی ۱۲ اسکلروت از ۲۰ اسکلروت کشت شده آپوتسیم‌های کامل بوجود آمد. تعداد آپوتسیم‌های تشکیل شده روی این اسکلروتها بین ۱ تا ۳ عدد متغیر بود. تعداد پایه‌های آپوتسیم (stipes) تشکیل شده روی اسکلروتها بین ۱ تا ٤ عدد متغیر بود، در بعضی اسکلروتها حتی پایه آپوتسیم نیز تولید نگردید.

در روش *باغبانی مهماندار* و همکاران (۱۳۸۱) پس از گذشت حدود ٤ ماه از اسکلروتهای کشت داده شده در درون گلدانهای محتوی ورمیکولیت آپوتسیم‌های کامل بوجود آمد و از تعدادی از اسکلروتهای قرار داده شده در لوله‌های محتوی آب آگار یک درصد نیز آپوتسیم‌های کامل بوجود آمد تعداد پایه‌های آپوتسیم تشکیل شده روی اسکلروتها بین ۱ تا ۳ عدد متغیر و در بعضی اسکلروتها حتی پایه آپوتسیم نیز تولید نگردید.

تعیین بیماریزایی جدایه قارچ *S. sclerotiorum*

بوته‌های کلزا پس از ٤ هفته علائم کپک سفید و باریک شدن در منطقه طوقه را بطور

www.SID.ir

Archive of SID
کامل نشان دادند در آزمون کخ نیزخصوصیات میکروسکوپی قارچ جدا شده از بوته‌های آلوده، با قارچ تلقیح شده کاملاً یکسان بود.

جداسازی باکتریها

در این بررسی در مجموع ۹۸ جدایه باکتریایی جداسازی گردید. نتایج نشان داد که از مجموعه جدایه‌های باکتری، ۱۲ جدایه بیشترین قدرت را در ایجاد هاله بازدارندگی داشتند که به عنوان جدایه‌های آنتاگونیست انتخاب گردیدند.

نتایج حاصل از تأثیر جدایه‌های باکتریائی در ایجاد فاصله بازدارندگی روی قارچ *Sclerotinia sclerotiorum* در شرایط آزمایشگاهی

نتایج نشان داد که از ۹۸ جدایه باکتریایی جداسازی شده از منطقه ریزوسفر کلزای آلوده منطقه رستم‌آباد ۱۲ جدایه P6، P43، P34، P21، B20، P26، P14، B24، P13، B10، P9 و P45 دارای بیشترین قدرت در ایجاد فاصله بازدارندگی روی قارچ *S. sclerotiorum* در شرایط آزمایشگاه بودند لذا این جدایه‌ها برای انجام کارهای بعدی انتخاب گردیدند.

خصوصیات افتراقی باکتریهای آنتاگونیست

جدایه‌های آنتاگونیست P13، P34، P14، P9، P26، P43، P45 و P6 در برابر رنگ‌آمیزی گرم، واکنش منفی و جدایه‌های B24 ، B10، B20 و B24 واکنش مثبت نشان دادند. جدایه‌های گرم منفی روی محیط King's B، حالت فلورسنت داشته و در محیط بدون اکسیژن قادر به رشد نبودند.

کلیه جدایه‌های گرم منفی و جدایه‌های B10 و B20 واکنش اکسیداز آنها مثبت بود. افزودن سلولهای باکتریایی به آب اکسیژنه سه درصد و عدم تشکیل حباب، نشانه منفی بودن واکنش کاتالاز ارزیابی شد. جدایه‌های باکتریایی بدست آمده توانستند ژلاتین و توین ۸۰ را هیدرولیز نمایند. با وجود این، کلیه جدایه‌ها بجز جدایه B20 قادر به تولید اندول را نبودند. خصوصیات افتراقی جدایه‌های آنتاگونیست در (جدول ۱) منعکس شده است. براساس آزمونهای فوق و کلید موجود در کتاب *شاد* (Schaad 2001) جدایه‌های P13 ، P34، P14، P9، P26، P43، P45 و P6 در گونه *P. fluorescens* پکتینولیتیک (Pectinolitic) قرار گرفتند. سه جدایه B21، B24 و B20 نیز بعنوان *Bacillus cereus* و جدایه B10 به عنوان *B. subtilis* تشخیص داده شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱ – خصوصیات افتراقی باکتریهای آنتاگونیست جداسازی شده از ریزوسفر کلزا

Table 1. Differential characters of antagonistic bacteria, isolated from rhizosphere of oilseed rape

خصوصیت	واکنش جدایه‌های آنتاگونیست											
جدایه	P6	P9	P13	P14	P26	P34	P43	P45	B10	B20	B21	B24
رنگ‌آمیزی گرم	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+	+
رشد بی‌هوازی	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+	+	+
تولیدرنگدانه فلورسنت	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	–	–
فوق حساسیت روی توتون	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
لهانیدن سیب‌زمینی	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	+	+
دهیدرولیز آرژنین	+	+	+	+	+	+	+	+	–	+	–	+
لوان	–	+	+	+	–	+	–	–	–	–	–	+
احیاء نیترات	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+
کاتالاز	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
استفاده از توین ۸۰	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
اکسیداز	+	+	+	+	+	+	+	+	+	–	–	+

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- (ادامه)

Table 1. (continued)

هیـــــــدرولیز نشاسته	−	−	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+
هیدرولیز ژلاتین	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ایندول	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−
تولید H_2S	−	−	+	+	+	+	+	+	−	−	+	+
لیسیتیناز	+	+	+	+	−	−	+	+	+	+	+	+
هیـــــــدرولیز کازئین	+	+	−	+	−	−	−	−	+	+	+	+
اســـــتفاده از L- Lysin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
تست سیترات	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
SRS	+	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−
اســـــــتفاده از آرابینوز	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−

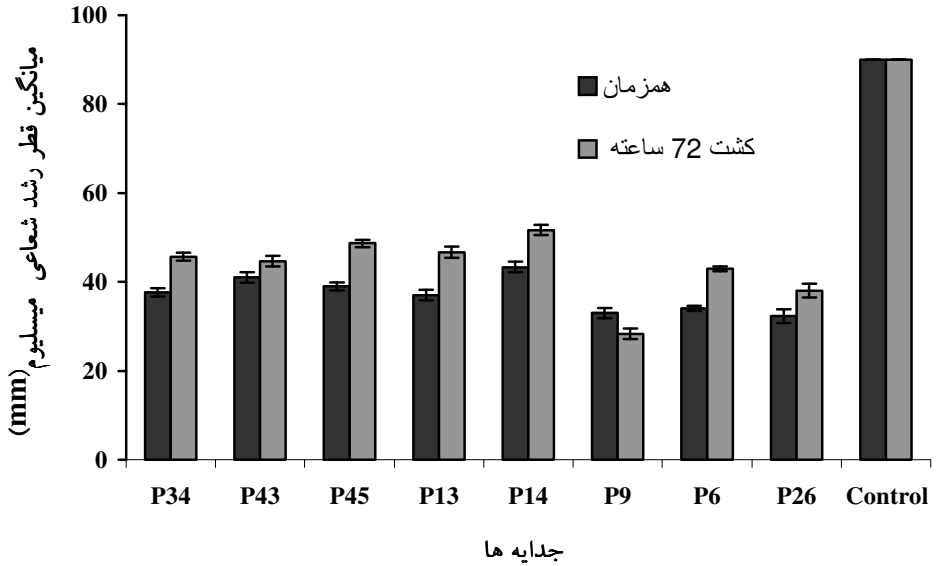
مکانیسم‌های بازدارندگی جدایه‌های باکتریائی آنتاگونیست

نتایج حاصل از تأثیر ترکیبات فرار ضد قـارچی جدایـه‌هـای آنتاگونیسـت در بازدارنـدگی از رشـد ریسـه‌ای *S. sclerotiorum* در کشت همزمـان و کشـت ۷۲ سـاعته جدایـه هـای آنتاگونیسـت قبـل از کشـت قـارچ *S. sclerotiorum*

در کشت همزمان کلیه تیمارها نسبت به شاهد در سطح ۱٪ تفاوت معنی‌داری نشان دادند. جدایهٔ P26 با ۸۸/۸۲ و B21 با ۸۷/۱۷ درصد دارای بیشترین و جدایـه‌هـای P34 بـا ٥٦/۲۲ ، B10 با ٥۷/۳۲ و P43 با ٥۸/۰۰ درصـد دارای کمتـرین تـأثیردر جلـوگیری از رشـد ریسـه‌ای *S. sclerotiorum* بودند. جدایه‌های P45 ، B20 ، P13 ، P14 ، B24 و P9 نیز به ترتیب با داشـتن ٦۲/٤٦، ۷۳/۲٦، ۷٥/۲۷، ۸۱/۱۳، ۸۳/۳۳ و ۸٤/٤۳ درصد بازداری از رشد بین آنها قرار داشـتند (شکل ۱).

www.SID.ir

Archive of SID



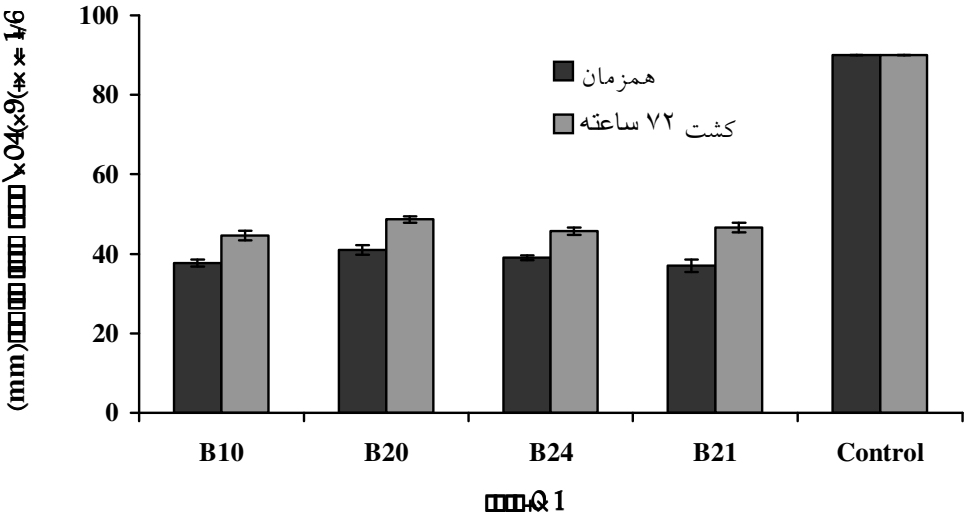
شکل۱- تاثیر ترکیبات فرار جدایه‌های سودوموناس در جلوگیری از رشد ریسه‌ای قارچ *S. sclerotiorum* در کشت همزمان و ۷۲ ساعته باکتریها.

Fig. 1. Effect of *Pseudomonas* isolates volatile compounds on mycelial growth of *S. sclerotiorum* in simultaneous and sequential (72 hrs.) culture of bacteria.

در شرایطی که جدایه‌های باکتریائی آنتاگونیست ۷۲ ساعت قبل از قارچ *S. sclerotiorum* کشت داده شده‌اند. کلیه تیمارها نسبت به شاهد در سطح ۱٪ تفاوت معنی‌داری داشتند. براساس مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد (α=0.05) کلیه ۱۲ جدایه آنتاگونیست نسبت به شاهد دارای تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ بودند. جدایه P6 با ۷۲/۲۲ و P26 با ۷۲/۱۳ درصد دارای بیشترین و جدایه‌های B10 با ٤۹/۳۵ درصد ، P43 با ٤۹/۷۲ درصد و P45 با ۵۱/۸۵ درصد دارای کمترین تأثیر در جلوگیری از رشد ریسه‌ای *S. sclerotiorum* بودند، جدایه‌های P9 B24, B20, P14, P13, B21, و P34 نیز به ترتیب با داشتن ٥٤/٦٣، ٦١/١١، ٦٢/٠٤، ٦٢/٢٢، ٦٥، ٦٦/٣٨ و ٦٧/٦٨ درصد بازداری از رشد بین آنها قرار داشتند (شکل ۲).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲- تاثیر ترکیبات فرار جدایه‌های باسیلوس در جلوگیری از رشد ریسه‌ای قارچ *S. sclerotiorum* در کشت همزمان و ۷۲ ساعته باکتریها.

Fig. 2. Effect of *Bacillus* isolates volatile compounds on mycelial growth of *S. sclerotiorum* in simultaneous culture and 72 hours culture of bacteria.

تأثیر ترشحات مایع برون یاخته‌ای در جلوگیری از رشد ریسه‌ای *S. sclerotiorum*

در این بررسی اختلاف بین جدایه‌های آنتاگونیست، غلظت هر عصاره و اثر متقابل (میزان غلظت عصاره و جدایه) در بازداری از رشد ریسه‌ای *S. sclerotiorum* در غلظتهای ۲۵، ۱۵ و ۵ درصد حجمی در جدول (۲) منعکس شده است.

تاثیر بازدارندگی متابولیت های قابل نفوذ در آگار

براساس نتایج بدست آمده از تجزیهٔ واریانس کلیهٔ تیمارها در سطح ۱٪ تفاوت معنی‌داری داشتند و هر ۱۲ جدایهٔ P43 ، P34 ، P26، B24، B21، B20، P14 ، P13، B10، P9 ، P6 و P45 قادر به تولید متابولیت‌های قابل نفوذ در آگار بودند. براساس مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲ – تأثیر جدایه‌ها و غلظتهای مختلف ترشحات مایع برون یاخته‌ای جدایه‌های آنتاگونیست باسیلوس و سودوموناس در جلوگیری از رشد ریسه‌ای *S. sclerotiorum*

Table 2. Effect of isolates and culture filtrate of antagonistic *Bacillus* and *Pseudomonas* isolates on inhibition of mycelial growth of *S. sclerotiorum*

تیمار	میانگین قطر رشد پرگنه (mm)	درصد بازداری	غلظت عصاره (v/v)	گروهبندی تیمارها
B21	۳٦/۵	۵۹/٤٤	٪۲۵	C
	٤٤/۵	۵۰/۵۵	٪۱۵	C
	۵۲/۲	٤۲/۰٤	٪۵	CDE
P26	۳٦/۲	۵٦/۵	٪۲۵	C
	٤۸	٤٦/۷	٪۱۵	C
	۵٦/۷	۳٤/۸	٪۵	C
P14	٤۵/۲	٤۹/۸۲	٪۲۵	B
	٦٤	۲۸/۸۸	٪۱۵	B
	۷٦/۸	۱٤/٦۲	٪۵	B
B20	۱۷/۳	۸۰/۷	٪۲۵	E
	۲۰/۷	۷۷	٪۱۵	F
	۲۸/۷	٦۸/۲	٪۵	H
P13	۱٦/۲	۸۱/۵	٪۲۵	E
	۲۱	۷٦/۷	٪۱۵	F
	۳۰/۷	٦۵/۹	٪۵	H
B24	۳٤/۵	٦۱/٦٦	٪۲۵	C
	٤٤/۳	۵۰/۷٤	٪۱۵	C
	۵٦/۷	۳۷/۰٤	٪۵	DC
P34	۱۵/۳	۸۲/۹٦	٪۲۵	E
	۲۰/۳	۷۷/٤۱	٪۱۵	F

www.SID.ir

Archive of SID

Table 2. (continued)

جدول ۲- (ادامه)

	۲٤/۳	۷۲/۹٦	٪۵	H
B10	۲۳	۷٤/٤٤	٪۲۵	D
	۲۹	٦۷/۷۷	٪۱۵	DE
	٤٦/۲	۵۵/۳۷	٪۵	G
P6	۲۵/۱	۷۱/۲۹	٪۲۵	D
	۳۳/۱	٦۳/۱٤	٪۱۵	D
	٤۰/۸	۵٤/٦۳	٪۵	DE
P43	۲۷/۳	٦۹/٦۲	٪۲۵	D
	۳٤/۳	٦۱/۸۵	٪۱۵	D
	٤۲/۳	۵۲/۹٦	٪۵	FG
P45	۲٤/۳	۷۲/۹٦	٪۲۵	D
	٤۱/۷	۵۳/۷۱	٪۱۵	C
	٤۸	٤٦/٦٦	٪۵	FE
P9	۱۵/۷	۸۲/۵۹	٪۲۵	E
	۲۳	۷٤/٤٤	٪۱۵	EF
	۲۹	٦۷/۷۷	٪۵	H
شاهد	۹۰	۰/۰۰	٪۲۵	A
	۹۰	۰/۰۰	٪۱۵	A
	۹۰	۰/۰۰	٪۵	A

داده‌ها میانگین ۳ تکرار هستند.

Data are the mean of three replications.

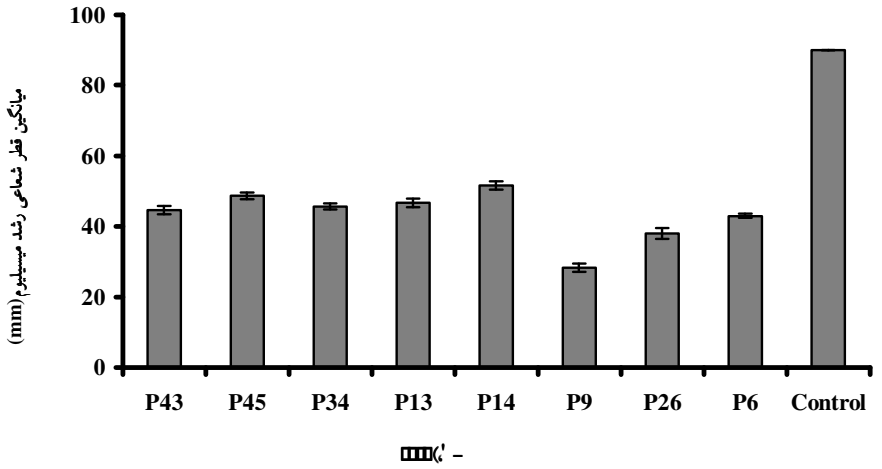
LSD در سطح احتمال ۵ درصد (P=0.05) این جدایه‌ها تفاوت معنی‌داری در سطح ۱٪ با شاهد داشتند. براساس مقایسه میانگین‌ها دو جدایه P13 با ۸۵/٤۰ و P26 با ۸۳/۷٦ درصد دارای بیشترین و دو جدایه P14 با ٤٦/۵۲ و P43 با ٤۷/٦۸ درصد کمترین تأثیر را در بازداری از رشد ریسه‌ای قارچ داشتند (شکل ۳ و ٤).

www.SID.ir

Archive of SID

تعیین تولید یا عدم تولید سیدروفور

هر ۸ جدایه P45, P43, P34, P26, P14, P13, P9 و P6 در محیط King's B محتوی ۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومول کلرید آهن قادر به تولید سیدروفور بودند و در نتیجه از رشد میسلیومی *G. candidum* ممانعت بعمل آوردند. با وجود این، در سطح ۱٪ تفاوت معنی‌داری بین جدایه‌ها از نظر میزان قدرت تولید سیدروفور و غلظت کلریدآهن و اثر متقابل این دو در ایجاد هاله بازدارندگی، وجود داشت. نتایج حاصل از این بررسی در جدول (۳) ذکر شده است.

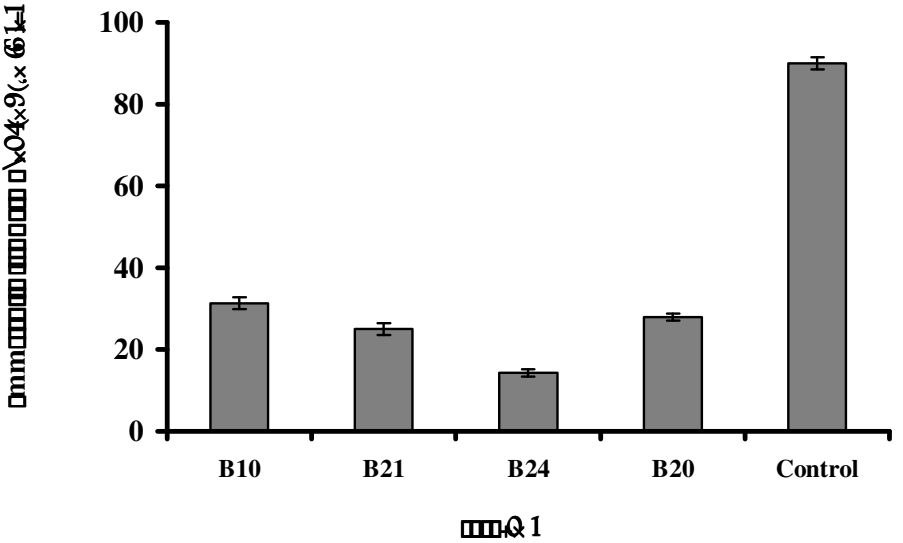


شکل ۳- تاثیر بازدارندگی متابولیت‌های قابل نفوذ در آگار جدایه‌های سودوموناس در جلوگیری از رشد ریسه‌ای قارچ *S. Sclerotiorum*

Fig. 3. Effect of metabolite diffusates of *Pseudomonas* isolates on inhibition of mycelial growth of *S. sclerotiorum.*

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ٤- تاثیر بازدارندگی متابولیت های قابل نفوذ در آگار جدایه‌های باسیلوس در جلوگیری از رشد ریسه‌ای قارچ *S. Sclerotiorum*.

Fig. 4. Effect of metabolite diffusates into agar on Bacillus isolates in inhibiting mycelial growth of *S.sclerotiorum.*

جدول۳- تاثیر جدایه‌های سودوموناس و غلظت‌های مختلف کلریدآهن در ایجاد هاله

Table 3. Effect of *Pseudomonas* isolates and different cocentrations of $Fecl_3$ in production of halo

گروهبندی تیمارها	میانگین قطر رشد هاله (Cm)	تیمار
B	۱/۸۳	P6
BC	۰/٦۰	
ABC	۰/٦۰	

www.SID.ir

Archive of SID

Table 3. (continued)

جدول ۳- (ادامه)

P13	۳/۳۳	A
	۱/٦٦	A
	۰/۷٦	AB
P45	۲/۰۰	B
	۱/۳۰	AB
	۰/۸۳	AB
P43	۱/٦۸	C
	۱/۲۰	C
	۰/۹٦	C
P14	۰/۳۰	C
	۰/۱٦	C
	۰/۰٦	C
P34	۱/۱٦	BC
	۰/۲۳	C
	۰/۰٦	C
P26	۱/۰۰	BC
	۰/۵۰	BC
	۰/۳٦	BC
P9	۱/۰۰	BC
	۰/۵۰	BC
	۰/۳۰	BC

داده‌ها میانگین ۳ تکرار هستند.

Data are the mean of three replications.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

در این تحقیق مجموعا" ۹۸ جدایه باکتریائی از منطقه ریزوسفر کلزای آلوده جداسازی گردیدند که توانائی آنتاگونیستی ۱۲ جدایه از این باکتریها شامل ٤ جدایه باکتری گرم مثبت (سه جدایه متعلق به *B.subtilis* و یک جدایه متعلق به *B.cereus*) و ۸ جدایه باکتری گرم منفی متعلق به *P.fluorescens* علیه قارچ عامل بیماری با استفاده از روش کشت متقابل (Dual culture) به اثبات رسید.

تاثیر ترکیبات فرار ضد قارچی جدایه‌های آنتاگونیست روی رشد ریسه‌ای قارچ *S. sclerotiorum* مورد مطالعه قرار گرفت و معلوم شد که کلیه این جدایه‌ها ترکیبات فراری را تولید می‌نمایند که تاثیر مطلوبی در بازداری از رشد ریسه‌ای قارچ *S. sclerotiorum* دارد. در مورد شناسائی نوع ترکیبات فرار جدایه‌های باسیلوس، تحقیقات زیادی صورت گرفته‌است و تاکنون تولید ترکیبات فراری مثل الکلها (ایزوآمیل‌الکل)، آلدئیدها، کتونها و استرها توسط جدایه‌های مختلف باسیلوس در بازدارندگی مطلوب آنها در جلوگیری از رشد رویشی قارچها و سیانوباکترها به اثبات رسیده‌است (Fiddamen & Rossall 1994). از جمله ترکیبات فراری که توسط جدایه‌های سودوموناس فلورسنس تولید می‌شود می‌تواند سیانید هیدروژن باشد که در بررسی‌های انجام شده توسط کاستریک و کاستریک (Castric & Castric 1983) تولید آن توسط جدایه‌های سودوموناس فلورسنس به اثبات رسید.

در بررسی تاثیر ترشحات مایع برون یاخته‌ای جدایه‌های سودوموناس و باسیلوس در بازداری از رشد ریسه‌ای قارچ *S. sclerotiorum* در آزمایشگاه، مشخص گردید که تمامی جدایه‌ها ترشحاتی را تولید می‌کنند که در جلوگیری از رشد ریسه‌ای *S. sclerotiorum* مؤثرند. تحقیقات مفصلی در مورد نوع ترکیبات موجود در ترشحات مایع برون یاخته‌ای جدایه‌های باسیلوس و سودوموناس صودت گدفته است و مشخص گردیده که یکی از ترکیبات مهم آنها آنتی‌بیوتیکهاست که انواعی از آنها از قبیل مایکوباسیلین، باسیلومایسین، مایکوباسوبتیلین، ایتورین- آ، فونجیستاتین، باسیلیسین، سابسپورین و فنجی‌مایسین توسط شریبر و همکاران (Schreiber *et al*. 1988) از جدایه‌های باسیلوس گزارش شده است. از سوی دیگر آنتی‌بیوتیکهای فنازین-۱- کربوکسیلیک اسید، ۲ هیدروکسی- فنازین- ۱- کربوکسیلیک اسید،

www.SID.ir

Archive of SID

۲- هیدروکسی- فنازین، ۲ و ٤- دی استیل فلوروگلوسینول، پیولوتئورین و پیرولنیتـرین نیـز توسط محققینی چون *ساوچوک* و همکـاران (Savchuk *et al* . 2001) و *دلافوئنـت* و همکـاران (De La Fuent *et al*. 2001) از جدایـه‌هـای سـودوموناس گـزارش گردیدنـد و اثـرات آنهـا در بازداری از رشد ریسه‌ای قارچها، باکتریهای گرم مثبت و مخمرها به اثبات رسیده است.

در آزمایش تاثیر بازدارندگی متابولیت‌های قابل نفـوذ در آگـار، جدایـه‌هـای باسـیلوس و سودوموناس فلورسانت در جلـوگیری از رشـد ریسـه‌ای قـارچ *S. sclerotiorum* روی محـیط کشت PDA مشخص گردید که آنتی‌بیوتیک تولید شده توسط این جدایه‌ها، باعث بـازداری از رشد قارچ مذکور در مقایسه با شـاهد مـی‌گـردد. *لائـورا* و همکـاران (Laura *et al*. 1998) در تحقیق خود گزارش نمودند که جدایه *Bacillus cereus* UW85, تولید آنتی‌بیوتیک زویترمایسین آ (Zwittermicin A) می‌نماید که میـزان ۲۰۰ µg/well ایـن آنتـی‌بیوتیـک مـی‌توانـد در شـرایط آزمایشگاهی روی محیط PDA با pH- ٥/٦ جلوی رشـد *S. sclerotiorum* را تـا ٥٠ درصـد در مقایسه با شاهد بگیرد.همچنـین سـاوچوک و همکـاران در سـال ۲۰۰۱ (Savchuk *et al*. 2001) *گزارش کردند که جدایه Pseudomonas chlororaphis,* PA_23 تولید سه آنتی‌بیوتیک فنازین-۱- کربوکسیلیک اسید، ۲ هیدروکسی- فنازین- ۱- کربوکسیلیک اسید و ۲- هیدروکسی- فنـازین می‌نمایند که مانع از رشـد میسـلیومی، تولیـد سـاختارهای زمسـتان گـذران و همچنـین مـانع جوانه‌زنـی آسکوسـپورهای *S. sclerotiorum* در شـرایط آزمایشـگاه مـی‌گـردد. سـیدروفورها کلاته‌کننده‌های قوی آهن فریک با وزن مولکولی کم بوده که تحت شرایط کمبود آهـن تولیـد می‌شود و تولیـد آن بعنـوان یکـی از مکانیسـم‌هـای مهـم بیـوکنترل گـزارش گردیـده اسـت. در بررسی‌های انجام شده پیرامون تولیـد سـیدروفور توسـط کلیـه جدایـه‌هـای سـودوموناس فلورسـانت (Kloepper *et al.* 1980) توانسـتند در محـیط‌کشـت King B محتـوی ٥، ٥٠ و ۱۰۰ میکرومول کلریدآهن از رشد *Geotrichum candidum* جلـوگیری نماینـد. *میرکـادو- بلانکـو* و همکاران (Mercado Blnco *et al*. 2001) گزارش نمودند که جدایه Wcs374 *P. fluorescens* تولید دو نوع سیدروفور به نامهای پزدوباکتین و پزدومونین می‌نمایند.

بکارگیری مبارزه بیولوژیک علیه عوامل بیماریزای خاکزاد علاوه بر بی‌خطر بودن آنها برای محیط‌زیست، این حسن را دارد که عوامل بیوکنترل (بخصوص باکتریهای آنتاگونیست) قادرند

www.SID.ir

Archive of SID

در خاک مزرعه مستقر شده و بقاء یابند و بعنوان عوامل بیوکنترل طبیعی عمل نمایند (Singh 2001). استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک بخصوص عوامل باکتریایی زمینه مناسبی برای مبارزه با قارچ *S. sclerotiorum* می‌باشد. لازم است تحقیقات در خصوص شرایط اکولوژیکی مناسب برای عوامل آنتاگونیست و بقاء آنها در خاک و نحوه کاربرد عوامل بیوکنترل در سطح مزرعه ادامه یابد.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (134-131) متن انگلیسی مراجعه شود.

نشا نی نگارندگان: سیده‌لیلا اکبری‌کیارودی، مصطفی نیک‌نژادکاظم‌پور، سیدعلی الهی‌نیا و سیداکبر خداپرست. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان، استادیار، دانشیار و استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان

www.SID.ir