Archive of SID

بیماریهای گیاهی، جلد ٤١، ١٣٨٤

کنترل بیولوژیک عامل بیماری پوسیدگی معمولی ریشه گندم توسط باکتری‌های آنتاگونیست ناحیه ریزوسفر

Biological Control of Common Root Rot of Wheat by Antagonistic Bacteria Isolated from Wheat Rhizosphere

کبری محمدی*، حشمت‌اله رحیمیان، حسن‌رضا اعتباریان و مجتبی قلندر

گروه گیاهپزشکی مجتمع آموزش عالی ابوریحان دانشگاه تهران، گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه مازندران، بخش تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی، اراک

دریافت ٨٣/٥/٦ پذیرش ٨٤/٤/١٥

چکیده

به منظور کنترل بیولوژیک بیماری پوسیدگی معمولی ریشه گندم، ناشی از *Bipolaris sorokiniana* اثر آنتاگونیستی ٢٨٠ جدایه باکتری از ناحیه ریزوسفر گندم جمع‌آوری شده از مناطق مختلف استان مرکزی، روی دو جدایه *B. sorokiniana* براساس ناحیه بازدارندگی از رشد روی محیط‌کشت PDA مورد ارزیابی قرار گرفت. سی درصد جدایه‌ها دارای خاصیت آنتاگونیستی بودند که در نهایت هفت جدایه با ناحیه بازدارندگی مختلف، برای آزمون‌های بعدی انتخاب شدند. با توجه به آزمون‌های بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی ویژگی‌های سویه‌های G1 و GH2 با *Bacillus subtilis*، سویه‌های SH4 و KH7 با *B. pumillus*، سویه D6 با *B. cereus*، سویه H3 با *Bacillus* sp. و سویه A5 با

* مسئول مکاتبه

www.SID.ir

Archive of SID

Pseudomonas fluorscens bv.III مطابقت داشت. در بررسی‌های آزمایشگاهی تمامی سویه‌ها با تولید مواد فرار و ترکیبات مایع خارج سلولی توانستند از رشد میسلیوم دو جدایه *B. sorokiniana* جلوگیری کنند. سویه *P. fluorescens* A5 نیز با تولید سیدروفور از جوانه‌زنی اسپورهای *Geotrichum candidum* جلوگیری نمود. در بررسی‌های گلخانه‌ای از دو روش پوشش بذر و محلول پاشی سوسپانسیون باکتری در خاک استفاده شد. در آزمون تیمار بذر سویه‌های *B. subtilis* GH2 و *P. fluorescens* A5 و در آزمون تیمار خاک سویه‌های *B. subtilis* GH2 و *B. pumillus* KH7 بیشترین تاثیر را در کاهش شدت بیماری، افزایش ارتفاع، وزن خشک اندام هوایی و ریشه در حضور قارچ عامل بیماری نشان دادند. همین سویه‌ها باعث تحریک رشد گیاه، افزایش ارتفاع، وزن خشک اندام هوایی و ریشه در گیاهچه‌های مایه‌زنی نشده با جدایه‌های قارچ عامل بیماری شدند.

واژه های کلیدی: باکتری‌های آنتاگونیست، کنترل بیولوژیک، پوسیدگی معمولی ریشه، ریزوسفر، گندم، *Bipolaris sorokiniana*

مقدمه

بیماری پوسیدگی معمولی ریشه در اثر قارچ *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. in Sorok.) Shoemaker (syn: *Helminthosporium sativum* Pammel, C. M. King & Bakke) از جمله بیماری‌های مهم گندم در دنیا از جمله کشور ایران (*منصوری* و همکاران ،۲۰۰۲) می‌باشد. پوسیدگی معمولی ریشه به عنوان یکی از عوامل محدودکننده کشت گندم زمستانه در شمال غربی اقیانوس آرام گزارش گردیده و میزان کاهش محصول در این مناطق ۳۹-۱۰ درصد برآورد شده است (Smiley & Patterson 1995). خسارت پوسیدگی ریشه گندم در کشورهای مختلف ۵۰-۳ درصد تخمین زده شده است (Nicol 2003). این بیماری در سال‌های اخیر از مناطق مختلف کشور از جمله استان‌های تهران (*امینی*، ۱۹۹٦)، فارس (*روانلو*، ۱۹۹۷)، کرمانشاه (*صفایی*، ۱۹۹۹)، آذربایجان غربی (*ایرانی و ارشاد*،۲۰۰۰)، آذربایجان شرقی (*محمدی‌پور و ارشاد*، ۲۰۰۲)، لرستان، ایلام، زنجان و مرکزی (*منصوری* و همکاران،۲۰۰۲) گزارش شده است. طی بررسی‌هایی که توسط *منصوری* و همکاران بین سال‌های ۸۰- ۱۳۷۸ صورت گرفت *B. sorokiniana* و گونه‌های مختلف فوزاریوم (*Fusarium* spp.) به عنوان عامل اصلی بیماری

www.SID.ir

Archive of SID

پوسیدگی معمولی ریشه و طوقه گندم معرفی شدند. خسارت ناشی از این عوامل ۱۲/۵-۳ درصد برآورد گردید (*منصوری* و همکاران، ۲۰۰۲). کنترل شیمیایی بیماری‌هایی که توسط عوامل قارچی خاکزاد از جمله بیماری پوسیدگی معمولی ریشه ایجاد می‌شود مشکل و گاهی غیرممکن است. از سوی دیگر کنترل شیمیایی مستلزم هزینه زیاد بوده و باعث بر هم خوردن تعادل میکروبی خاک و اثرات مخرب زیست‌محیطی می‌گردد (Cook & Baker 1983). کاربرد عوامل آنتاگونیستی در خاک و سطح گیاه می‌تواند جایگزین مناسب و بی‌خطری در جهت کنترل بیماری‌های خاکزاد باشد. عوامل آنتاگونیستی علاوه بر اینکه اثر نامطلوب بر روی گیاه و محیط ندارند در مواردی باعث افزایش عملکرد محصول نیز می‌شوند (Weller 1988). *شیوانا* و همکاران (Shivanna *et al*. 1996) تاثیر سه جدایه *Phoma* sp. جدا شده از *Zoysia tenuifolia* (Wilild.) Thiele. به عنوان قارچ تحریک کننده رشد گیاه (Plant Growth Promoting Fungi) را روی بیماری پوسیدگی معمولی ریشه گندم بررسی نمودند. هر سه جدایه قارچ با کاهش میزان کلنیزاسیون ریشه توسط *Cochliobolus sativus* (Ito & Kurib.) Drechs. ex Dastur (مرحله جنسی *B. sorokiniana*) سبب کاهش بیماری پوسیدگی معمولی ریشه گردیدند و جدایه GS6-1 باعث افزایش ارتفاع و وزن تر گیاه شد. در یک مطالعه تاثیر پوشش بذر با پودر وتابل *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn روی عوامل بیماریزای مهم گندم و لوبیا بررسی شد. نتایج نشان داد این فرمولاسیون روی قارچ تاثیری مشابه قارچ‌کش‌های متداول دارد. همچنین این محصول بیولوژیک تاثیری در جوانه زدن بذر هیچکدام از گیاهان آزمایش شده نداشت (Lazzaretti & Bettiol 1997). در بررسی که توسط *جانسون* و همکاران (Johnsson *et al*. 1998) انجام شد، تاثیر سویه *Pseudomonas chlororaphis* (Guignard & Sauvagaue) Bergey *et al.* MA342 روی بیماری‌های بذرزاد غلات در شرایط مزرعه مورد آزمایش قرار گرفت و مشخص شد که شدت بیماری ایجاد شده توسط *B. sorokiniana* در تیمار با عامل بیوکنترل ۵۰/۷ درصد بود در حالی که در تیماری که قارچکش پانوکتین پلاس ٤۰۰ (imazalil + guzatine) به کار رفته بود تنها ۳۰/۸ درصد بود و هر دو نسبت به شاهد که شدت بیماری آن ۷۹/٤ درصد بود، تفاوت معنی‌دار داشتند. همچنین اثر بازدارندگی عامل آنتاگونیست دست کم به مدت دو سال روی بذرهای

www.SID.ir

Archive of SID

گندم (انبار شده در شرایط خشک) باقی ماند. در یک بررسی تاثیر *Piriformospara indica* Verma *et al.* روی کنترل لکه برگی و پوسیدگی ریشه گندم ایجاد شده توسط *B. sorokiniana* مطالعه گردید. آلودگی روی برگ‌ها از ٤٦ درصد به ٢٥ درصد کاهش یافت. همچنین پوشش ریشه‌های گندم با این قارچ سبب افزایش رشد گیاه، وزن تر اندام هوایی و محصول گردید (Kumar *et al*. 2002). در این تحقیق عوامل باکتریایی آنتاگونیست از محیط فرا ریشه (Rhizosphere) بوته‌های گندم از مناطق مختلف استان مرکزی، جداسازی و اثر آنها در شرایط آزمایشگاه و گلخانه در کنترل *B. sorokiniana* مورد بررسی قرار گرفت، تا در آینده بتوان از این عوامل در کنترل بهتر بیماری پوسیدگی معمولی ریشه سود جست.

روش بررسی

جداسازی قارچ عامل بیماری و باکتری‌های آنتاگونیست

برای جداسازی قارچ عامل بیماری در سال ١٣٨١ مزارع گندم آبی در مناطق مختلف استان مرکزی، در مرحله پس از ظهور سنبله مورد بازدید قرار گرفت. بوته‌های گندم با علایم کم رشدی، زودرسی، سیاه‌شدگی میان گره زیر طوقه و پوسیدگی ریشه نمونه‌برداری گردید. از محل میان گره زیر طوقه بوته‌های گندم با علایم بالا قطعاتی روی محیط‌کشت سیب زمینی- دکستروز- آگار (PDA) کشت و *B. sorokiniana* به روش معمول جداسازی شد (Stack 1992). آزمون اثبات بیماریزایی جدایه‌ها به روش زیر با مایه‌زنی خاک گلدان با مایه قارچ عامل بیماری انجام شد و دو جدایه *B. sorokiniana* (یک جدایه از شهرستان شازند و یک جدایه از شهرستان خمین) انتخاب شدند (Wildermuth & McNamara 1987). برای تهیه مایه قارچ مقدار ٥٠٠ گرم بذر گندم به مدت ١٦ ساعت داخل آب خیسانده، سپس آب اضافی گرفته و بذرهای خیس خورده تا یک سوم حجم ظروف در ارلن (به حجم یک لیتر) ریخته و درب ظروف ارلن با پنبه و فویل آلومینیومی بسته شد و دو بار به فاصله ٢٤ ساعت و هر بار به مدت ٢٠ دقیقه، در دمای ١٢١° C سترون گردید. پس از سرد شدن، چهار قطعه پنج میلی‌متری از حاشیه کشت شش روزه قارچ به هر ارلن افزوده و در دمای ٢٥ ° C نگهداری شدند. پس از گذشت ٢٨ روز دانه‌های گندم کلنیزه شده به وسیله جدایه‌های قارچ از ظروف ارلن خارج گردیده و در شرایط

www.SID.ir

Archive of SID

سترون قرار داده تا کاملا خشک شوند. سپس بذرها با استفاده از دستگاه مخلوط کن خرد گردیده و از الک دو میلی‌متری عبور داده شد. جهت اثبات بیماریزایی، مایه جدایه‌های قارچ به نسبت وزنی پنج درصد با خاک سترون (مخلوطی از خاک، ماسه و کود حیوانی (۲:۱:۱)) مخلوط و داخل گلدان‌ها ریخته شد. تعداد پنج بذر گندم که با محلول سفید کننده تجارتی ۱۰٪ (حاوی ۰/۵ درصد هیپوکلریت‌سدیم) به مدت ۲-۱ دقیقه ضدعفونی سطحی شده بودند، در عمق سه سانتی‌متری کاشته شدند و گلدان‌ها به گلخانه با دمای C ° ۲۵-۲۰ منتقل و هر ۲-۱ روز یکبار آبیاری گردیدند. پس از گذشت ۵-٤ هفته، گیاهچه‌ها از خاک خارج شده و ریشه‌ها زیر آب شسته و علایم بیماری مورد ارزیابی قرارگرفت. سپس اقدام به جداسازی دوباره قارچ گردید.

برای جداسازی باکتری‌های آنتاگونیست *B. sorokiniana* در تابستان ۱۳۸۱ نمونه‌هایی از خاک اطراف ریشه بوته‌های گندم مناطق مختلف استان مرکزی برداشته شد. نمونه‌برداری‌ها از مزارع مورد نظر به طور تصادفی انجام شد. در سطح مزرعه به شکل M حرکت کرده و بوته‌های گندم به صورت تصادفی از خاک خارج و خاک اطراف ریشه‌ها جدا گردید. ریشه‌ها همراه خاک اطراف آن‌ها، در پلاستیک‌های مجزا قرار گرفته و به آزمایشگاه منتقل گردید. خاک چسبیده به ریشه‌های بوته‌های گندم به وسیله یک برس از سطح ریشه جدا گردید و نمونه‌های هر مزرعه با یکدیگر مخلوط شد. یک گرم از خاک هر مزرعه درون لوله آزمایش حاوی نه میلی‌لیتر آب مقطر سترون ریخته و لوله‌ها با شیکر تکان داده شد. به روش سری رقت‌ها (serial dilution) غلظت‌های مختلف سوسپانسیون خاک تهیه گردید. از رقت‌های 10^{-4} و 10^{-5} هر یک از نمونه‌ها ۰/۱ میلی‌لیتر به طور جداگانه روی محیط کشت‌های آگار غذایی (NA) و King B افزوده و به طور یکنواخت در سطح محیط کشت‌ها پخش گردید. کشت‌ها به مدت ٤۸ ساعت در دمای C ° ۲۵ نگهداری گردیدند. پس از ظهور پرگنه‌ها در سطح محیط‌کشت، پرگنه‌هایی که از نظر رنگ و شکل ظاهری متفاوت بودند، جهت خالص‌سازی، به محیط‌کشت NA منتقل شدند. خالص‌سازی به روش مخطط کردن انجام گرفت. پس از خالص‌سازی هر جدایه به آب مقطر سترون منتقل و در دمای چهار درجه سانتیگراد نگهداری گردید (Schaad *et al*. 2001).

www.SID.ir

Archive of SID

انتخاب باکتری‌های آنتاگونیست در شرایط آزمایشگاه

باکتری‌های جدا شده بر علیه دو جدایه *B. sorokiniana* با آزمون چهار نقطه‌ای بررسی شدند. ابتدا چهار سویه مختلف باکتری در فاصله یک سانتیمتری از لبه تشتک پتری حاوی محیط کشت PDA به صورت خطی کشت داده شدند. به طور همزمان یک قطعه از کشت جوان جدایه *B. sorokiniana* در وسط محیط‌کشت گذارده شد. کشت‌ها در دمای C ° ۲۵ نگهداری شدند، پس از آنکه سطح تشتک پتری شاهد توسط قارچ *B. sorokiniana* کاملا پوشیده شد، اقدام به اندازه‌گیری ناحیه بازدارندگی بین قارچ و باکتری‌ها شد.(Weller & Cook 1983). باکتری‌هایی که بازدارندگی نشان دادند، برای مرحله بعد انتخاب و با آزمون چهار نقطه‌ای در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار بررسی شدند. داده‌های بدست آمده (ناحیه بازدارندگی) تجزیه و تحلیل و با روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Little & Hill 1978) مقایسه شد. با استفاده از مقایسه میانگین داده‌ها، سطوح مختلف بازدارندگی برای دو جدایه قارچ مشخص گردید و هفت باکتری (دو سویه با بازدارندگی بالا، چهار سویه با بازدارندگی متوسط، یک سویه با بازدارندگی پایین) برای آزمون‌های بعدی انتخاب شدند. به منظور شناسایی باکتری‌های آنتاگونیست از روش‌های متداول بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی (Klement *et al*. 1964, Lelliot *et al*. 1966, Schaad *et al*. 2001) استفاده شد

بررسی اثر آنتاگونیستی باکتری‌های آنتاگونیست در شرایط آزمایشگاه

تمام آزمون‌های مربوط به این بررسی به صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. برای تعیین جمعیت باکتری‌های آنتاگونیست، باکتری‌های رشد داده شده به مدت ۲٤ ساعت در دمای C ° ۲۵روی محیط NA، در ظرف‌های حاوی آب مقطر سترون ریخته شد و سوسپانسیون غلیظی از باکتری تهیه گردید. میزان جذب نوری سوسپانسیون‌ها در ۵۹۰ نانومتر تعیین و با رقیق کردن به وسیله آب مقطر سترون، رقت $۱۰^{۷}$ واحد کلنی در میلی‌لیتر تهیه شد (Baudoin *et al.* 1988). مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱٪ صورت گرفت. درصد بازدارندگی باکتری‌ها از رشد قارچ، با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

مساحت پرگنه *B. sorokiniana* در هر تیمار – مساحت پرگنه *B. sorokiniana* در

www.SID.ir

Archive of SID

مساحت پرگنه *B. sorokiniana* در تشتک پتری شاهد

بررسی تولید ترکیبات فرار ضدقارچی توسط باکتری‌های آنتاگونیست

این آزمون مطابق روش *فیدامن و روزال* (Fiddaman & Rossall 1994) با اندکی تغییر انجام شد. سوسپانسیونی با رقت 10^{7} واحد کلنی در میلی‌لیتر از کشت ٤٨ ساعته سویه‌های باکتری در آب مقطر سترون تهیه گردید و به کمک لوپ سترون به روش چمنی (lawn) روی محیط‌کشت آگار غذایی حاوی دو درصد گلوکز (NAG) کشت داده شد. کشت‌ها در دمای ۲۵ °C به مدت ٢٤ ساعت نگهداری گردیدند. سپس یک قطعه پنج میلی‌متری از حاشیه کشت سه روزه جدایه‌های *B. sorokiniana* در وسط تشتک پتری حاوی PDA قرار داده شد و در شرایط سترون، زیر هود درب هر دو تشتک پتری کشت باکتری و کشت قارچ برداشته و دو تشتک پتری روی یکدیگر قرار داده شد به نحوی که تشتک کشت قارچ بالا قرار گیرد. سپس با استفاده از نوار پارافیلم ظروف تشتک پتری مسدود گردید و تشتک‌ها به مدت شش روز در دمای ۲۵ °C نگهداری شدند. سپس درصد کاهش رشد شعاعی برای هر جدایه محاسبه گردید. در تیمار شاهد به جای سوسپانسیون باکتری، آب مقطر سترون استفاده شد.

آزمون بررسی ترکیبات مایع خارج سلولی با استفاده از ورقه‌های سلوفان

ورقه‌های سلوفان آب‌دوست (Australian Cellophane,Victoria) به قطر۹/۵ سانتیمتر بریده و پس از قراردادن در آب جوش به مدت ۲۰ دقیقه، در بین کاغذهای صافی قرار داده شد و در دمای ۱۲۱ °C به مدت ۲۰ دقیقه سترون گردید. ورقه‌های سلوفان با استفاده از پنس سترون روی محیط‌کشت قرار داده شد. سوسپانسیونی با رقت 10^{7} واحد کلنی در میلی‌لیتر از کشت تازه سویه‌های باکتری تهیه گردید و با استفاده از گوش پاک‌کن سترون روی ورقه‌های سلوفان پخش شد. کشت‌ها در دمای ۲۵ °C به مدت ٤٨ ساعت نگهداری شدند. پس از ٤٨ ساعت ورقه‌های سلوفان با پنس سترون برداشته و یک قطعه پنج میلی‌متری از کشت جوان جدایه‌های قارچ در وسط پتری قرار داده شد و تشتک‌ها دوباره به انکوباتور با دمای ۲۵ °C درجه سانتیگراد منتقل شدند (Denis & Webster 1971a). در تیمار شاهد به جای سوسپانسیون باکتری، از آب مقطر سترون استفاده شد و درصد کاهش رشد شعاعی برای هر جدایه، پس از شش روز

www.SID.ir

Archive of SID

محاسبه گردید.

بررسی تولید سیدرفور

این آزمون براساس روش *ولر وکوک* صورت گرفت (Weller & Cook 1983). سویه *Pseudomonas fluorescens* (Trevisan) Migula مورد نظر روی محیط‌کشت King B حاوی غلظت‌های ۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۰۰۰میکرومول کلرید فریک کشت و به مدت ٤٨ ساعت در دمای C ° ۲۵ نگهداری گردید. سپس یک سوسپانسیون اسپور از کشت ٤٨ ساعته *Geotrichum candidum* Link در آب مقطر سترون تهیه و روی کشت‌های باکتری پاشیده شد. تشتک‌ها دوباره به انکوباتور با دمای C ° ۲۵ منتقل شدند و پس از ٤٨ ساعت جوانه‌زنی اسپورها و رشد قارچ در اطراف توده باکتری مورد بررسی قرار گرفت. عدم رشد قارچ در اطراف توده باکتری نشانه تولید سیدرفور تلقی گردید.

بررسی تاثیر قارچکش‌های دیفنوکونازول(difenoconazole) و تریادیمنول(triadimenol) بر روی باکتری‌های آنتاگونیست

تاثیر قارچکش‌های دیفنوکونازول (دیوایدند(Dividend) پودر وتابل ۳٪) و تریادیمنول (بایتان (Baytan) پودر وتابل ۷/۵٪) روی باکتری‌های آنتاگونیست با استفاده از روش دیسک‌های کاغذی صورت گرفت. ابتدا غلظت‌های ۱، ۱۰،۵۰ و ۱۰۰ PPM قارچکش‌های بالا در آب مقطر سترون تهیه گردید. سپس جدایه‌های باکتری روی محیط کشت NA به صورت چمنی کشت شدند و چهار دیسک کاغذی سترون در چهار غلظت سم و یک دیسک در آب مقطر سترون فرو برده شد به طوری که به حالت اشباع برسند. سپس دیسک‌های کاغذی روی محیط‌کشت حاوی باکتری قرار داده شد. تشتک‌ها به مدت ٤٨ ساعت در C ° ۲۵ نگهداری شدند و رشد یا عدم رشد باکتری در اطراف دیسک‌ها بررسی گردید (Baudoin *et al.* 1988).

بررسی اثر باکتری‌های بالقوه آنتاگونیست در شرایط گلخانه

برای ارزیابی تاثیر باکتری‌های آنتاگونیست روی بیماری پوسیدگی معمولی ریشه گندم در شرایط گلخانه از دو روش تیمار بذری به صورت پوشش بذر (seed dressing) و تیمار خاک به صورت پاشیدن سوسپانسیون باکتری در خاک (soil drenching) استفاده گردید. همچنین در هر دو روش، تاثیر باکتری‌های آنتاگونیست در افزایش رشد بوته‌های گندم در غیاب قارچ عامل

www.SID.ir

Archive of SID

بیماری ارزیابی شد. در آزمایش‌های گلخانه‌ای از بذر گندم (رقم الوند زمستانه)، دو جدایه قارچ و هفت سویه باکتری استفاده شد. مایه جدایه‌های *B. sorokiniana* به نسبت سه درصد وزنی با خاک (مخلوطی از خاک مزرعه، ماسه و کود حیوانی (۲:۱:۱)) سترون شده، مخلوط گردید و در گلدان‌هایی به قطر دهانه ۱٤ سانتیمتر ریخته شد. سپس پنج عدد بذر گندم که قبلا با محلول سفیدکننده تجارتی ۱۰٪ (حاوی ۰/۵ درصد هیپوکلریت‌سدیم) ضدعفونی سطحی شده بود، جهت آزمون خاک در هر گلدان کاشته شد. هر دو آزمون به صورت فاکتوریل با دو فاکتور و در قالب طرح کاملا تصادفی انجام گردید و برای هر تیمار چهار تکرار در نظر گرفته شد. فاکتور A (قارچ عامل بیماری) شامل سه سطح شاهد بدون قارچ، جدایه شازند (SH) و جدایه خمین (KH) بود و فاکتور B (جدایه‌های باکتری) شامل هشت سطح، شاهد بدون باکتری و سویه‌های G1، GH2، H3، SH4، A5، D6 و KH7 بود.

درآزمون تیمار بذر، بذرهای گندم قبل از پوشش داده شدن با باکتری به مدت ۲-۱ دقیقه با محلول سفیدکننده تجارتی ۱۰ درصد ضدعفونی سطحی شدند. سوسپانسیون غلیظی از کشت ٤۸ ساعته باکتری‌ها تهیه و در ظروف ارلن مایر حاوی متیل سلولز سترون(یک درصد) ریخته شد. بذرها در ظروف فوق ریخته و به مدت یک ساعت نگهداری گردید. سپس بذرها از سوسپانسیون باکتری خارج و در تشتک‌های پتری سترون، زیر هود تا خشک شدن آنها نگهداری شد. پنج بذر آغشته به باکتری در هر یک از گلدان‌ها کاشته شد (Weller & Cook 1983). جهت تعیین جمعیت باکتری‌ها روی بذر، سه عدد بذر تیمار شده با هر جدایه باکتری به صورت تصادفی انتخاب و هر یک درون لوله آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون بر روی شیکر قرار داده شد. از رقت‌های 10^{-4} و 10^{-5} تهیه شده، ۰/۱ میلی‌لیتر روی محیط کشت NA پخش گردید و در دمای ۲۵ °C نگهداری شد. پس از ظهور پرگنه‌ها اقدام به شمارش تعداد آنها شد (Baudoin *et al.* 1988).

در آزمون تیمار خاک باکتری‌های آنتاگونیست رشد داده شده به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۲۵ °C روی محیط NA، در ظرف‌های حاوی آب مقطر سترون ریخته شد و سوسپانسیون غلیظی از باکتری تهیه گردید. میزان جذب نوری سوسپانسیون‌ها در ۵۹۰ نانومتر تعیین و با رقیق کردن به وسیله آب مقطر سترون، رقت 10^{9} واحد کلنی در میلی‌لیتر تهیه شد

www.SID.ir

Archive of SID

(Baudoin *et al.* 1988). پس از کاشت بذرها داخل گلدان ۷۰ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری‌های آنتاگونیست به هر یک از گلدان‌ها اضافه گردید. در تیمار شاهد از آب مقطر سترون استفاده شد (Weller & Cook 1983).

پس از گذشت ۵۰ روز از کشت بذرهای گندم نگهداری شده در گلخانه با دمای ۲۰-۲۵° C و شرایط نوری ۱٤ ساعت روشنایی، اقدام به اندازه‌گیری ارتفاع گیاهچه‌ها، وزن خشک اندام هوایی و ریشه و تعیین شدت بیماری روی ریشه‌ها گردید. ارتفاع بوته از سطح خاک تا نوک بلندترین برگ اندازه‌گیری شد. برای محاسبه وزن خشک اندام هوایی و ریشه، بوته‌ها از محل طوقه بریده شده و پس از خشک شدن (در دمای ۶۰ °C سانتیگراد به مدت ۲٤ ساعت) توزین شدند. جهت تعیین شدت بیماری تعداد ریشه‌های تغییر رنگ داده (قهوه‌ای تا سیاه) شمارش گردید و درصد ریشه‌های آلوده محاسبه شد (تعداد ریشه‌های آلوده/ کل ریشه‌های گیاه ×۱۰۰). البته درجه بندی شدت بیماری در منابع براساس میزان آلودگی میان گره زیر طوقه می‌باشد که در این بررسی به‌دلیل عدم یکنواختی تشکیل میان‌گره زیر طوقه و عدم تشکیل آن در برخی تکرارها قابل استفاده نبود.

به منظور تجزیه و تحلیل آماری اعداد برای شاخص‌های مورد مطالعه از لحاظ نرمال بودن و منحنی توزیع یکنواختی و تجزیه واریانس، از نرم افزار MSTAT-C استفاده گردید. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد (Little & Hill 1978). برای نرمال کردن داده‌ها، تبدیل داده با استفاده از فرمول‌های $Y = a\sin\sqrt{x}$ (x شدت بیماری یا درصد کاهش رشد میسلیوم)، $Y = \sqrt{z}$ (z وزن خشک اندام هوایی یا ریشه) انجام شد.

نتیجه

دو جدایه *B. sorokiniana* یک جدایه از شهرستان شازند (SH) و یک جدایه از شهرستان خمین (KH) که روی گیاهچه‌های گندم نسبت به سایر جدایه‌ها بیماریزاتر بودند، انتخاب شدند و اثر باکتری‌های آنتاگونیست جدا شده از خاک اطراف ریشه بوته‌های گندم، روی آنها بررسی شد. در این بررسی ۲۸۰ سویه باکتری از خاک اطراف ریشه بوته‌های گندم از مناطق مختلف استان مرکزی جدا گردید که از این میان ۳٤ درصد سویه‌ها گرم منفی و ٦٦ درصد آنها گرم

www.SID.ir

Archive of SID

مثبت بودند. حدود ٤٠ درصد سویه‌های باکتری نسبت به جدایه‌های *B. sorokiniana* خاصیت بازدارندگی داشتند. از این بین ۱۰ سویه باکتری که دارای ناحیه بازدارندگی زیر ۱۰ میلی‌متر، ١٦ سویه با ناحیه بازدارندگی بین ۱۳-۱۰ میلی‌متر و پنج سویه با ناحیه بازدارندگی بالاتر از ۱۳ میلی‌متر بودند انتخاب و مورد ارزیابی قرار گرفتند. پس از تجزیه و تحلیل داده‌ها، با توجه به مقایسه میانگین داده‌ها هفت سویه باکتری (سویه‌های G1، GH2، H3، SH4، A5 ، D6 و KH7) برای بررسی اثرات آنتاگونیستی بر روی جدایه‌های *B. sorokiniana* در شرایط آزمایشگاه و گلخانه انتخاب شدند.

با توجه به آزمون‌های بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی ویژگی‌های سویه‌های G1و GH2، با *B.subtilis* ، سویه‌های SH4 و KH7 ، با *B. pumilus* Meyer & Gottheil ، سویه D6 با *B.cereus* Frankland & Frankland و سویه A5 با *P. fluorescens* bv. III مطابقت داشتند. سویه H3 در جنس باسیلوس (*Bacillus* sp.) قرار گرفت.

اثر بازدارندگی باکتری‌ها در شرایط آزمایشگاه

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد تمام باکتری‌های آنتاگونیست با تولید مواد فرار، حداقل ٥٣/٦٥ درصد باعث کاهش رشد میسلیوم قارچ عامل بیماری شدند و سویه *B. subtilis* G1 بیشترین تاثیر را داشت (جدول۱). سویه *B. pumilus* KH7 نسبت به سایر سویه‌ها تاثیر کمتری در کاهش رشد میسلیوم جدایه‌های قارچ به ویژه جدایه SH داشت. اثر ترکیبات فرار باکتری‌های آنتاگونیست روی دو جدایه قارچ یکسان بود. سویه *B. subtilis* G1 با تولید ترکیبات مایع خارج سلولی، تقریبا باعث توقف کامل رشد میسلیوم جدایه‌های *B. sorokiniana* شد و دو سویه *Bacillus* sp. H3 و *B. pumilus* KH7 کمترین تاثیر را داشتند (جدول۱). سویه A5 (*P. fluorescens*) روی محیط کشت KB در غلظت‌های صفر، ۲۵ ، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومول کلرید آهن III از رشد *G. candidum* جلوگیری نمود اما در غلظت ۱۰۰۰ میکرومول کلریدآهن III قارچ مزبور روی محیط KB رشد نمود که این امر نشان دهنده تولید سیدرفور توسط این سویه می‌باشد زیرا غلظت بالای آهن از تولید سیدروفور جلوگیری می‌نماید.

در روش آغشته سازی کاغذ صافی سترون به دو قارچکش تریادیمنول و دیفنوکونازل، هیچ یک از غلظت‌های یک، ۱۰،۵۰و ۱۰۰ پی پی ام دو قارچکش، تاثیر منفی در رشد

www.SID.ir

Archive of SID

باکتری‌های آنتاگونیست نداشتند.

جدول ۱- میانگین کاهش رشد میسلیوم جدایه‌های *Bipolaris sorokiniana* در تیمار با باکتری‌های آنتاگونیست در آزمون‌های آزمایشگاهی

Table 1. Effect of antagonistic bacterial on mycelial growth reduction of *Bipolaris sorokinana* isolates in laboratory tests

باکتری‌های آنتاگونیست	درصد کاهش رشد میسلیوم *Bipolaris sorokiniana* Reduction mycelial growth of *Bipolaris sorokiniana* (%)*			
	B. sorokiniana SH isolate		*B. sorokiniana* KH isolate	
Antagonistic bacteria	آزمون سلوفان Celophane test	آزمون تولید مواد فرار Volatiles test	آزمون سلوفان Celophane test	آزمون تولید مواد فرار Volatiles test
Bacillus subtilis G1	95 ab**	78 a	97 A	69 a
B. subtilis GH2	93 abc	67 a	89 cde	57 ab
Bacillus sp. H3	69f	63 ab	75 f	69 a
SH4 *B. pumilus*	91 bcd	55 ab	94 abc	75 a
Pseudomonas fluorescens A5	89 cde	69 a	92 bcd	69 a
B. cereus D6	87 de	69 a	84 E	75 a
B. pumilus KH7	69f	26 b	72 f	54 ab

*. درصد کاهش رشد میسلیوم پس از رشد کامل قارچ در تیمار شاهد (دمای C° ۲۵) اندازه‌گیری شد.

*. Percentage of mycelial growth reduction measured after complete growth of the fungus in control treatment (25° C).

اعداد جدول میانگین سه تکرار است.

Numbers are average of three replications.

**. تیمارهایی که دارای حروف مشترک می باشند، در سطح یک درصد با یکدیگر اختلاف معنی دار ندارند.

**. Numbers with similar letter in each column are not statistically different at 1% level according Duncan`s multiple range test.

اثر باکتری‌های آنتاگونیست روی رشد گیاهچه‌های گندم و کنترل پوسیدگی معمولی ریشه در شرایط

www.SID.ir

Archive of SID

گلخانه

الف- تاثیر باکتری‌های آنتاگونیست در روش تیمار بذر

تمام باکتری‌های آنتاگونیست در مقایسه با شاهد باعث کاهش شدت پوسیدگی ریشه شدند و سویه‌های *B. subtilis* GH2، *B. pumilus* SH4 و *P.fluorescens* A5 بهترین تاثیر را در کاهش شدت بیماری جدایه *B. sorokinina* KH داشتند. شدت بیماریزایی دو جدایه قارچ روی گندم یکسان بود. تیمارهای مختلف باکتری تقریبا اثر یکسانی روی ارتفاع گیاهچه‌های گندم در حضور جدایه‌های *B. sorokinana* داشتند و سویه *B. subtilis* GH2 با اندکی تفاوت، بیشترین اثر را داشت. همچنین در آزمون تحریک رشد گیاهچه‌های گندم، سویه‌های *B. subtilis* GH2 و *P. fluorescens* A5 باعث افزایش ارتفاع گیاهچه‌های گندم در مقایسه با شاهد غیر آلوده شدند. سویه‌های *P. fluorescens* A5، *B. subtilis* GH2، *B. pumilus* SH4 و *B. subtilis* G1 باعث افزایش وزن خشک اندام هوایی در مقایسه با شاهد غیر آلوده و تحریک رشد گیاه در این شاخص شدند. همچنین سویه‌های *B.subtilis* GH2 و *B. cereus* D6 در حضور جدایه‌های قارچ عامل بیماری بیشترین تاثیر را داشتند. تمامی سویه‌های باکتری باعث افزایش وزن خشک ریشه در مقایسه با شاهد آلوده شدند و سویه‌های *P. fluorescens* A5 و *B. subtilis* GH2 بیشترین تاثیر را داشته و تفاوت اثر آنها معنی‌دار بود. همچنین تمامی سویه‌ها به جز سویه *B. pumilus* KH7 در مقایسه با شاهد غیر آلوده باعث تحریک رشد گیاه در این شاخص شدند و سویه *B. subtilis* GH2 بیشترین و سویه *Bacillus* sp. H3 کمترین اثر را داشت (جدول۲).

ب- تاثیر باکتری‌های آنتاگونیست در روش تیمار خاک

براساس مقایسه میانگین داده‌ها سویه *B. subtilis* GH2 با کاهش ۱۵/۵درصدی شدت بیماری ناشی از جدایه *B. sorokinana* KH بهترین تاثیر را نشان داد و سویه *Bacillus* sp. H3 کمترین تاثیر را داشت. شدت بیماری دو جدایه با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشت. سویه‌های *B. pumilus* KH7، *B. subtilis* GH2 و *P. fluorescens* A5 در مقایسه با شاهد غیر آلوده باعث افزایش ارتفاع گیاهچه‌های گندم شدند و تمام سویه‌های آنتاگونیست به جز سویه *Bacillus* sp. H3، باعث افزایش این شاخص در حضور جدایه‌های قارچ عامل بیماری شدند. تمامی سویه‌های آنتاگونیست باعث تحریک رشد گیاه و افزایش وزن خشک اندام هوایی شده و سویه‌های *B. pumilus* KH7 و *B. subtilis* GH2 بیشترین تاثیر را در افزایش وزن خشک اندام

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- اثر باکتری‌هـای آنتاگونیسـت در شـدت بیمـاری دو جدایـه *Bipolaris sorokinian* ، ارتفاع، وزن خشک اندام هوایی و ریشه در تیمار بذر گندم

Table 2. Effects of antagonistic bacteria on disease rating of *Bipolaris sorokiniana*, height , shoot and root dry weights of wheat seedling using seed treatment

تیمار جدایه‌های باکتری Bacterial treatment*	شدت بیماری Disease rating (%)**	ارتفاع گیاه Height (cm)	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight (g)	وزن خشک ریشه Root dry weight (g)
KH+C0	55 a	27.35 j	2.72 kl	1.78 o
KH+G1	21.25 d	29.5 hij	3.21 efg	2.46 hi
KH+GH2	23.25 cd	34.25 cde	3.20 fghi	2.39 ij
KH+H3	27.25 bcd	29.57 hi	2.92 ijkl	1.95 n
KH+SH4	22.75 d	31.11 fgh	3.36 fgh	2.47 ghi
KH+A5	20.25 d	33.40 def	3.58 ef	2.54 gh
KH+D6	23.75 d	31.30 fgh	3.12 ghij	2.29 jkl
KH+KH7	29.25 bcd	30.37 gh	2.82 jkl	2.16 m
SH+C0	59 a	27.92 ij	2.66 l	1.79 o
SH+G1	34.25 bcd	29.77 ghi	3.0 hijkl	2.02 n
GH2+SH	24.5 bcd	34.27 cde	3.59 ef	2.52 gh
SH+H3	30.5 bcd	30.27 gh	3.05 hijk	2.28 kl
SH+SH4	28.75 bcd	32.07 efg	3.24 fghi	2.38 ijk
SH+A5	26 bcd	33.17 def	3.47 efg	2.48 ghi
SH+D6	29.25 bcd	31.20 fgh	3.21 fghij	2.37 ijk
SH+KH7	35.5 b	30.05 ghi	2.85 l	2.20 lm
CH+C0	-	34.55 bcd	3.86 de	2.58 fg
CH+G1	-	35.5 bcd	4.44 bc	2.78 cd
CH+GH2	-	39.1 a	4.93 a	3.02 a
CH+H3	-	35.45 bcd	4.2 bcd	2.74 de
CH+SH4	-	36.12 bc	4.66 ab	2.86 bc
CH+A5	-	38.82 a	5.09 a	2.95 ab
CH+D6	-	36.73 b	4.27 bcd	2.75 de
CH+KH7	-	34.92 bcd	4.06 cd	2.67 ef

اعداد جدول میانگین چهار تکرار است. Numbers are average of four replications

تیمارهایی که دارای حروف مشترک می باشند، در سطح یک درصد با یکدیگر اختلاف معنی

جدول ۲- (ادامه) Table 2. (continued)

www.SID.ir

Archive of SID

دار ندارند

Numbers with similar letter in each column are not statistically different at 1% level.

*. G1 و GH2 : *Bacillus subtilis* ، SH4 و KH7 : *Bacillus pumilus* ، D6 :*Bacillus cereus* ،A5

جدایه خمـین KH تیمار بدون باکتری، C0 ، *Bacillus* sp. H3 و *Pseudomonas fluorescens*

تیمار بدون قارچ. CH و *Bipolaris sorokiniana* جدایه شازند SH ، *Bipolaris sorokiniana*

C0: treatment without bacterium, KH: *Bipolaris sorokiniana* KH isolate, SH: *Bipolaris sorokiniana* SH isolate and CH: treatment without fungus

**. شدت بیماری: درصد ریشه‌های آلوده.

**. Disease rating: percent of infected roots.

هوایی نشان دادند. همچنین سویه های مزبور در مقایسه با شاهد آلوده نیز اثـر بهتـری داشـتند. سویه‌های KH7 *B. pumilus* ، GH2 *B.subtilis* D6 *B. cereus* باعث افزایش وزن خشک ریشه در غیاب قارچ *B. sorokiniana* شدند (جدول۳).

جدول ۳- اثر تیمار گندم با سوسپانسیون باکتری‌های آنتاگونیست روی شدت بیماری دو جدایه *Bipolaris sorokiniana* ، ارتفاع گیاه، وزن خشک اندام هوایی و ریشه

Table 3. Effects of antagonistic bacteria on disease rating of *Bipolaris sorokiniana*, height, shoot and root dry weights of wheat seedling using soil drenching

تیمار جدایه‌های باکتری Bacterial treatment*	شدت بیماری Disease rating (%)**	ارتفاع گیاه Height(cm)	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight(g)	وزن خشک ریشه Root dry weight(g)
KH+C0	68.25 a	27.42 n	1.71 j	1.58 m
KH+G1	36.25 bc	30.42 klm	1.06 hij	1.96 jkl
KH+GH2	15.5 d	36.74 defg	2.89 cde	2.18 cdef
KH+H3	37.5 b	29.01 lmn	2.31 ghi	2.02 hijk
KH+SH4	30.75 bc	33.02 hijk	2.12 hi	2.05 ghij
KH+A5	23.75 bcd	33.74 ghij	2.25 hi	1.94 kl
KH+D6	28 bcd	32.67 ijk	2.32 ghi	2.1 fgh
KH+KH7	29 bcd	36.68 defg	2.67 efg	2.13 efg
SH+C0	70.25 a	28.22 mn	1.72 j	1.61 m
SH+G1	30.5 bc	34.25 fghi	1.99 ij	1.96 jkl

www.SID.ir

Archive of SID

Table 3. (continued)

جدول ۳- (ادامه)

GH2+SH	21 cd	36.03 efgh	2.92 cde	2.09 fgh
SH+H3	34 bc	29.85 klmn	2.03 ij	1.9 l
SH+SH4	31.25 bc	34.49 fghi	2.9 ghi	2.01 hijk
SH+A5	36 bc	30.92 jklm	2.3 fghi	1.98 ijkl
SH+D6	34.5 bc	31.84 ijkl	2.48 fgh	2.06 ghi
SH+KH7	25 bcd	36.4 defg	2.74 def	2.17 def
CH+C0	-	37.3 def	2.9 fgh	2.21 bcde
CH+G1	-	38.67 cde	3.07 cde	2.75 abc
CH+GH2	-	43.89 a	4.15 a	2.36 a
CH+H3	-	38.15 cde	3.21 bc	2.23 bcd
CH+SH4	-	39.82 bcd	3.29 bc	2.27 abc
CH+A5	-	42.27 ab	3.15 bcd	2.95 a
CH+D6	-	40.92 abc	3.29 bc	2.24 bcd
CH+KH7	-	43.97 a	3.59 b	2.33 a

اعداد جدول میانگین چهار تکرار است.

Numbers are average of four replications

تیمارهایی که دارای حروف مشترک می باشند، در سطح یک درصد با یکدیگر اختلاف معنی دار ندارند.

Numbers with similar letter in each column are not statistically significant different at 1% level.

* G1 و GH2 : *Bacillus subtilis* ، SH4 و KH7 : *Bacillus pumilus* ، D6 :*Bacillus cereus* ،A5

جدایه خمین KH تیمار بدون باکتری، C0 ، H3 *Bacillus* sp. و *Pseudomonas fluorescens*

تیمار بدون قارچ. CH و *Bipolaris sorokiniana* جدایه شازند SH ، *Bipolaris sorokiniana*

C0: treatment without bacterium, KH: *Bipolaris sorokiniana* KH isolate, SH: *Bipolaris sorokiniana* SH isolate and CH: treatment without fungus.

**.شدت بیماری : درصد ریشه‌های آلوده.

**Disease rating: percent of infected roots.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

تمامی سویه‌های آنتاگونیست مورد استفاده قادر به تولید مواد فرار بوده و اثر بازدارندگی مواد فرار سویه *B. subtilis* G1 بیشتر بود. بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد مواد فرار تولید شده توسط *B. subtilis* باعث کاهش رشد میسلیوم *Pythium ultimum* Trow. و *Rhizoctonia solani* Kuhn می‌گردد. همچنین بدشکلی، واکوئله شدن و تورمهای میسلیومی در قارچ‌های مزبور در اثر مواد فرار تولید شده توسط این باکتری مشاهده شد (Fiddaman & Rossall 1993). در این بررسی از محیط آگار غذایی حاوی دو درصد گلوکز جهت کشت جدایه‌های باکتری استفاده گردید. طبق مطالعات انجام شده توسط فیدامن و روزال تولید مواد فرار توسط *B. subtilis* در محیط‌هایی که درصد قند بالاتری دارند بیشتر بوده و فعالیت ضد قارچی این باکتری نیز افزایش می‌یابد. متابولیت‌های فرار تولید شده توسط این باکتری در آب محلول بوده و شامل موادی نظیر الکل‌ها ، الدییدها ،کتون‌ها و استرها می‌باشد (Fiddaman & Rossall 1994). در این بررسی سویه *P. fluorescens* A5 با تولید مواد فرار باعث کاهش رشد میسلیوم *B. sorokiniana* به میزان ٦٨/٩٥ درصد گردید. نتایج تحقیقات *ویسارد* و همکاران (Voisard *et al.* 1989) نشان داد که تولید سیانید هیدروژن توسط سویه *P. fluorescens* CHAO باعث کاهش بیماری پوسیدگی سیاه ریشه توتون گردید و جدایه‌های جهش یافته این باکتری که قادر به تولید سیانید هیدروژن نبودند، نسبت به تیپ وحشی (CHAO) تاثیر کمتری در کنترل بیماری داشتند.

سویه‌های باکتری با تولید ترکیبات خارج سلولی به میزان زیادی (٦٩-٩٧٪) رشد میسلیوم *B. sorokiniana* را کاهش دادند و سویه‌های *B. subtilis* بیشترین تاثیر را داشتند. تولید متابولیت‌های ثانویه به ویژه آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند باسیلیسین (Bacilycin)، ایتورین-آ(Iturin A)، فنجیمایسین (Fengymycin)، باسیلومایسین (Bacillomycin) و مایکوباسیلین (Mycobacillin) به عنوان یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های بازدارندگی از رشد میکروارگانیسم‌ها توسط *B. subtilis* عنوان شده است (Schreiber *et al* . 1988). در بررسی انجام شده *رومانکو و آلیمو* (Romanenko & Alimov 2000) سویه‌های *B. subtilis* به نسبت سایر آنتاگونیست‌های مورد آزمایش (*P. fluorescens*، *P. putida* (Trevisan) Migula، *P. chlororaphis*، *P. cepacia*

www.SID.ir

Archive of SID

(*Pantoea agglomerons* (Beijerink) Gavini *et al.* و (Burkholder) Palleroni & Holmes) تـاثیر بیشتری در کاهش رشد میسلیوم *B. sorokiniana* داشتند. یکی از مکانیسم‌های کـاهش بیمـاری مرگ گیاهچه یونجـه (*P. ultimum*) توسـط سـویه *B. cereus* UW85 تولیـد آنتـی‌بیوتیـک‌هـای زویترمایسین (Zwittermicin) و کانازامین (Kanosamine) می‌باشد. ایـن دو آنتـی‌بیوتیـک باعـث تغییر شکل لوله تندشی اسپور در حال جوانه‌زنی شده و از طویل شـدن آن جلـوگیری کردنـد (Silo-Suh *et al*. 1994). متابولیت‌های ثانویه از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها و آنزیم‌ها نقش عمده‌ای در جلوگیری از رشـد عوامـل بیمـاریزای قـارچی توسـط سـودوموناس‌هـا بـه ویـژه در شـرایط آزمایشگاهی دارد (Weller 1988). تولید سیدرفور توسط سودوموناس‌ها یکی از مکانیسـم‌هـای مهم در محدود کردن بیماری می‌باشد. شر و بیکر نشان دادنـد *P. putida* بـا تولیـد سـیدرفور از رشد میسلیوم *Fusarium* spp. جلوگیری می‌نماید (Scher & Baker 1980). جدایه *P. fluorescens* A5 مورد استفاده در این بررسی نیز قادر به تولید سیدرفور بود.

رشد باکتری‌های آنتاگونیست در حضور قارچکش‌های تریادیمنول و دیفنوکونـازل طبیعـی بود، در نتیجه می‌توان ترکیبی از قارچکش و آنتاگونیست را جهت کنترل بیماری بـه کـار بـرد. استفاده هم زمان قارچکش دیفنوکونـازول و آنتاگونیسـت *Paenibacillus macerans* Ash تـاثیر بهتری از کـاربرد هـر کـدام بـه تنهـایی در کنتـرل عوامـل بیمـاریزای بـذرزاد گنـدم از جملـه *B. sorokiniana* داشته است (Luz 2003). این روش توسط سایر محققین نیز جهت دست‌یابی به کنترل بیشتر عوامل بیماریزای گیاهی پیشنهاد شده است (Weller 1988 و Baker 1987).

تاثیر سویه‌های آنتاگونیست روی دو جدایه *B. sorokiniana* (در شرایط گلخانه) یکسان بود، با توجه به این یافته می‌توان سویه‌های آنتاگونسیت را برای کنترل قارچ استفاده نمود. در هر دو آزمون گلخانه‌ای، تمام باکتری‌هـای آنتاگونیسـت در مقایسـه بـا شـاهد باعـث کـاهش شـدت پوسیدگی ریشه شدند. سویه *B. subtilis* GH2، بیشترین تاثیر را در افـزایش وزن خشـک انـدام هوایی و ریشه در حضور *B. sorokiniana* در تیمار بذر و خاک داشت و باعـث تحریـک رشـد بوته‌های گندم (در غیاب *B. sorokiniana*) گردید. سویه *P. fluorescens* A5 در تیمار بذر تـاثیر بیشتری در افزایش شاخص‌های رشـدی داشـت. بررسـی‌هـای انجـام گرفتـه توسـط *کیلـین* و همکاران (Kilian *et al*. 2000) نشان داد *B. subtilis* با مکانیسم‌های مختلف مانند رقابت تغذیه‌ای

www.SID.ir

Archive of SID

و مکانی، کلنیزاسیون ریشه، تولید آنتی‌بیوتیک، ایجاد مقاومت القایی درگیاه میزبان و تولید ترکیباتی مشابه اکسین و سیتوکنین سبب افزایش جذب آب و مواد غذایی و تحمل به تنش‌های محیطی و در نهایت افزایش رشد گیاه می‌گردد. تیمار بذر با *B. subtilis* باعث افزایش محصول هویج (٤٨ درصد)، یولاف (٣٣ درصد)، بادام‌زمینی (بیش از ٣٧ درصد) گردیده است (Weller 1988). در مورد باکتری *P. fluorecens* نیز تمامی مکانیسم‌های ذکر شده و همچنین تولید سیدر فور به عنوان عوامل تحریک رشد گیاه عنوان شده اند (Weller 1988). طبق بررسی *هـا لاز و دا* (Luz & Da. 1994) تیمار بذر با *P. fluorecens*، *B. subtilis*، *Bacillus* sp.، مخمر *Sporobolomyces roseus* Kluyver & van Niel، سویه‌های BBL، 4/88.4AA و 155/86.4 (باکتری‌های شناسایی نشده) باعث کاهش شدت بیماری پوسیدگی معمولی ریشه گندم گردیدند. همچنین افزایش عملکرد در تیمار با آنتاگونیست‌های ذکر شده مشاهده گردید. *الملیحی و حسن* (EL-Meleigi & Hassan 2001) نشان دادند بذر گندم تیمار شده با *B. polymyxa* (Prazmowski) Macé و *Bacillus* sp. باعث کاهش پوسیدگی معمولی ریشه و افزایش وزن خشک در شرایط گلخانه گردید. در شرایط مزرعه افزون بر کاهش شدت بیماری، افزایش عملکرد محصول به میزان ١٠٢/٤٨ درصد در تیمار با *B. polymyxa* و ٦١/٥٨ درصد در تیمار با *Bacillus* sp. بدست آمد. در یونجه نیز سویه *B. cereus* UW85 قادر به کاهش آلودگی گیاهچه‌های میزبان ناشی از *P. ultimum* بوده است (Silo-Suh *et al*. 1994). در آزمون تیمار خاک سویه *B. pumilus* KH7 باعث افزایش ارتفاع بوته و وزن خشک اندام هوایی و ریشه گردید در حالی که در آزمون تیمار بذر تاثیری در ارتفاع بوته و وزن خشک اندام هوایی نداشت و جزو باکتری‌های ضعیف محسوب می شد. در این تحقیق هر دو روش تیمار بذر و تیمار خاک در کنترل بیماری موثر بود. کاربرد هم زمان این دو روش یا استفاده از سوسپانسیون اسپور چند بار در طول فصل زراعی ممکن است باعث کنترل بیشتر بیماری گردد. همچنین می‌توان از چند عامل بیوکنترل یا تلفیقی از عوامل بیوکنترل و قارچکش‌ها یا روش‌های زراعی جهت دست‌یابی به کنترل بهتر بیماری سود جست. برای استفاده بهتر از عوامل آنتاگونیست، شناخت کافی بیولوژی این عوامل، گیاه و عوامل بیماریزا و بستر این‌ها (خاک) و همچنین اثرات متقابل آنها ضروری است. تاثیر عوامل آنتاگونیست در مزرعه و سپس سعی در فرموله کردن، ثبت و تولید

www.SID.ir

Archive of SID

تجارتی این عوامل از جنبه‌های اقتصادی و نیز قدرت تاثیر بیشتر، از اهمیت خاصی برخودار است و می‌بایست به طور کامل بررسی گردد. در نهایت استفاده از کنترل تلفیقی جهت کنترل عوامل بیماریزای خاکزاد گندم پیشنهاد می‌گردد.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (177-173) متن انگلیسی مراجعه شود.

نشا نی نگارندگان: کبری محمدی و دکتر حسن‌رضا اعتباریان گروه گیاهپزشکی مجتمع آموزش عالی ابوریحان دانشگاه تهران- پاکدشت، دکتر حشمت اله رحیمیان گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه مازندران- ساری و مهندس مجتبی قلندر بخش تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مرکزی، اراک

www.SID.ir