Archive of SID

Iranian Journal of Plant Protection Science
Vol 49, No 2, Autumn & Winter 2018-2019 (299-307)
DOI: 10.22059/ijpps.2018.242956.1006804

دانش گیاهپزشکی ایران
دورهٔ ۴۹، شمارهٔ ۲، پاییز و زمستان ۱۳۹۷ (ص ۳۰۷-۲۹۹)

ارزیابی توانایی سویه‌های باکتریایی فرموله‌شده بر مهار پوسیدگی فیتوفترایی طوقه و ریشه پسته

بدرالسادات محمودی میمند[۱]، روح اله صابری ریسه[۲*]، محمد مرادی[۳]، حسین علایی[۲] و امیرحسین محمدی[۳]

۱. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، بخش تحقیقات گیاهپزشکی، دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان

۲. دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولی‌عصر(عج) رفسنجان

۳. استادیار، بخش گیاه پزشکی، پژوهشکده پسته، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، رفسنجان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۷/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۸/۲)

چکیده

بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه (گموز) ناشی از گونه‌های مختلف فیتوفترا یکی از مهم‌ترین بیماری‌های پسته است که هرساله باعث از بین رفتن تعداد فراوانی از درختان بارور و غیر بارور می‌گردد. گرچه روش‌های مختلفی برای مدیریت این بیماری پیشنهاد شده ولی کنترل زیستی به‌عنوان یک روش سازگار با محیط‌زیست مورد توجه ویژه قرار گرفته است. در این پژوهش تأثیر ضدیت اثر (آنتاگونیستی) فرمولاسیون بر پایهٔ پودر تالک و سبوس گندم، پنج سویهٔ باکتری *Pseudomonas* جداسازی شده از خاک‌های منطقه‌های مختلف (سویه‌های T17-4، VUPF760 ، VUPF5، VUPF506 و CHA0) روی *Phytophthora drechsleri* عامل پوسیدگی طوقه و ریشهٔ پسته در شرایط گلخانه‌ای بررسی شد. سویه‌های VUPF760 و VUPF506 به ترتیب با ۵۵ و ۱۱ درصد بیشترین و کمترین تأثیر را در کاهش شدت بیماری‌زایی داشتند. نتیجه‌های حاصل از بررسی شاخص‌های رشدی (ارتفاع نهال و همچنین وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه) نشان‌دهندهٔ افزایش این شاخص‌ها در سویهٔ باکتری VUPF5 نسبت به شاهد سالم بود که به‌عنوان سویهٔ برتر در این پژوهش مطرح شد.

واژه‌های کلیدی: پسته، سودوموناس فلورسنت، گموز، فرمولاسیون.

Assessments of formulated bacterial strains against crown and root rot of pistachio trees

Badrolsadat Mahmudi Mimand[1], Rohollah Saberi Ryseh[2*], Mohammad Moradi[3], Hoseein Alaei[2] and Amir Hoseein Mohammadi[3]

1. Former M. Sc. Student, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran
2. Associate Professor, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran
3. Assistant Professor, Pistachio Research Center, Horticultural Science Research Institute, Agriculture Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rafsanjan, Iran

(Received: Oct. 17, 2017 - Accepted: Oct. 24, 2018)

ABSTRACT

Gummosis (Crown and root rot) is the most important disease of pistachio trees caused by different species of *Phytophthora* which destroy significant numbers of fertile and non-fertile trees each year in Iran. Different approaches have been applied to reduce the severity and incidence of the disease. In recent years, biological control as an eco-friendly approach has been increased in the world. The effectiveness of Talk powder and Wheat bran formulations of five *Pseudomonas* strains (T17-4, VUPF760, VUPF5, VUPF506, and CHA0) was assessed on seedlings inoculated with *Phytophthora drechsleri* under greenhouse conditions. The highest and lowest reduction rates of disease severity belonged to VUPF760 and VUPF506 with 55 and 11%, respectively compared to the control and other treatments. Seedling inoculated with bacterial strains had higher heights, fresh and dry weights of shoot and roots. VUPF5 increased the ratios of height, fresh and dry weight of shoot and root by 1.4, 1.3, 1.1, 1.2, and 1.1 respectively, compared to non-inoculated control seedlings.

Keywords: Fluorescent *Pseudomonas*, Formulation, Gummosis, Pistachio.

* Corresponding author E-mail: r.saberi@vru.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بیماری گموز (انگومک) دیرزمانی است به‌عنوان یکی از معضلات اصلی درختان پسته مطرح می‌شود به‌گونه‌ای که در باغ‌های با شرایط مناسب برای بیمارگر، باعث غیراقتصادی شدن تولید می‌گردد. عامل بیماری باعث پوسیدگی طوقه و ریشه شده و سرانجام مرگ کامل درختان را سبب می‌گردد. چندین گونهٔ مختلف قارچ *Phytophthora* از منطقه‌های مختلف پسته‌کاری به‌عنوان عامل این بیماری گزارش شده‌اند (Moradi, 1998; Mirabolfathy *et al*., 2001; Ma *et al*., 2011; Glick *et al*., 2014). به‌منظور کنترل بیماری از روش‌هایی چون مبارزهٔ زراعی، شیمیایی، کنترل زیستی و پایه‌های مقاوم استفاده می‌شود. لازم به ذکر است که کاربرد پیاپی و گستردهٔ قارچ‌کش‌ها به دلیل آلودگی زیست‌محیطی، اثرات مخرب روی انواع مختلف جانداران غیر هدف و ایجاد سویه‌های مقاوم (Roberts, 2002) جایز به نظر نمی‌رسد. در چنین شرایطی و نظر به دشواری‌ها فراوانی که درزمینهٔ کنترل بیمارگر پوسیدگی طوقه و ریشه پسته وجود دارد و با توجه به مرگ‌ومیر شدید درختان بیمار و خسارت فراوان به باغداران، اهمیت استفاده از روش‌های سازگار با محیط‌زیست در مدیریت این بیماری آشکار می‌گردد. در سال‌های اخیر پژوهش‌های فراوانی درزمینهٔ مبارزهٔ زیستی با بیماری‌های گیاهی صورت پذیرفته است.

تأثیر ۳۱ سویه از ۳۰۷ باکتری آنتاگونیست متعلق به گونه‌های *Bacillus subtilis*، *Bacillus cereus* و *P. fluorescens* (biovar III) جداسازی شده از منطقه‌های مختلف استان کرمان در کنترل بیماری گموز پسته روی نهال‌های آلوده به *Phytophthora citrophthora* به اثبات رسید (Saberi-Riseh *et al*., 2006). همچنین توان آنتاگونیستی ۲۰۰ جدایه از *Pseudomonas fluorescens* در کنترل پوسیدگی طوقه و ریشه خیار ناشی از *Phytophthora drechsleri* مورد بررسی قرار داده شد (Shirzad *et al*., 2012). کنترل زیستی *Phytophthora drechsleri* در گلخانه با استفاده از باکتری‌های اکتینومیست توسط Shahidi Bonjar *et al*. (2006) انجام گرفت که در این پژوهش از ۱۳۰ جدایهٔ باکتری جداسازی شده ۱۲ جدایه با ویژگی بازدارنده علیه قارچ عامل بیماری در آزمایشگاه داشتند و در گلخانه توانستند قارچ عامل بیماری را به‌خوبی کنترل کنند.

باکتری‌های ریشه‌گاهی (ریزوسفری) محرک رشد گیاه (PGPRs)، گروهی از باکتری‌های مفیدند که توانایی تسخیر ریشه، تحریک رشد گیاه و کاهش وقوع بیماری‌های گیاهی را دارند. این باکتری‌ها سازوکارهای مختلفی مانند تولید آنتی‌بیوتیک (Liu, 2007)، القای مقاومت سیستمیک (Fallahzade, 2009) و تولید سیدروفورهای قدرتمند را برای سرکوب بیماری‌های گیاهی به‌کار می‌گیرند (Abbas-Zadeh *et al*., 2010). در میان اغلب باکتری‌های ریزوسفر به‌عنوان عامل‌های آنتاگونیستی بیماری‌های گیاهی، گروه سودوموناس‌های فلورسنت از جایگاه برجسته و ویژه‌ای برخوردارند، چون دارای صفت‌هایی همچون رشد سریع و تولید انبوه در شرایط آزمایشگاه، تحریک رشد گیاه‌ها (از طریق افزایش دسترسی گیاه به مواد غذایی معدنی)، تثبیت نیتروژن، تسخیر ریشه، القای مقاومت به گیاه‌ها، تولید متابولیت‌هایی همچون سیدروفور، آنتی‌بیوتیک و سیانید هیدروژن هستند (Gupta *et al*., 2001).

فرمولاسیون عامل‌های کنترل زیستی یکی از جنبه‌های بسیار برجستهٔ پژوهش‌های زیست کنترل است. موفقیت درزمینهٔ استفاده از عامل‌های کنترل زیستی در شرایط تجاری اعم از حفظ توانایی زنده‌مانی، ماندگاری و کارایی به طور قابل‌توجهی به فرمولاسیون بستگی دارد. ازآنجایی‌که موجودات زنده، مادهٔ مؤثرهٔ فرآورده‌های زیستی را تشکیل می‌دهند، هر فرمولاسیونی باید ضمانت‌کنندهٔ ماندگاری کافی بوده و قابلیت کنترلکنندگی آن در تمام مرحله‌های فرمولاسیون، انبارداری طولانی‌مدت (حداقل یک سال) و آب‌گیری مجدد حفظ شود (Melin *et al*., 2007). افزون بر این هزینهٔ تولید تودهٔ زنده (بیومس) سلولی باید مقرون‌به‌صرفه باشد که بتواند در مقیاس صنعتی استفاده شود. با وجود این‌که PGPRs پتانسیل خوبی در مدیریت آفت‌ها و بیماری‌ها دارند، قابل استفاده به‌صورت سوسپانسیون سلولی در شرایط مزرعه نیستند. بنابراین بایستی سوسپانسیون در حامل

www.SID.ir

Archive of SID

معینی تثبیت شود و به‌صورت فرمولاسیون مناسب برای استفادهٔ آسان، ذخیره‌سازی و استفاده در مزرعه فراهم شود (Kloepper, 1993). ماده‌های حامل می‌توانند آلی یا غیر آلی باشند و همچنین ماده آلی باید مقرون‌به‌صرفه و در دسترس باشد (Nakkeeran, 2005). یک محصول میکروبی فرموله‌شده به معنای محصولی متشکل از تودهٔ زنده عامل زیست کنترل به همراه ماده‌هایی است که دوام و تأثیر محصول را بهبود می‌دهند (Bora *et al*., 2004). فرمولاسیون جامد (گرانول‌ها و پودرها) به علت ماندگاری فراوان و سهولت حمل یا انبار، معمولا بر فرمولاسیون‌های مایع برتری دارند (Sabaratnam & Traquair, 2002). کاربرد اقتصادی سودوموناس‌های فلورسنت برای کنترل بیماری‌های خاک‌زاد بستگی به توسعهٔ فرمولاسیون اقتصادی دارد به‌طوری‌که سویه در آن پایداری داشته باشد و تأثیر فرمولاسیون در شرایط مزرعه بر بیماری‌ها و افزایش بازدهٔ محصول بررسی شود. انگیزهٔ اصلی از توسعهٔ فناوری زیستی دربارهٔ باکتری‌های محرک رشد گیاه، افزایش جمعیت باکتری‌های مؤثر در خاک است که می‌تواند به توسعهٔ کشاورزی پایدار کمک کند (Adesemoye & Kloepper, 2009).

نظر به ارزش اقتصادی محصول پسته، توانایی بالای بیمارگری گونه‌های فیتوفترا، نقش برجستهٔ سیدروفور در کاهش شدت بیماری پوسیدگی طوقه و ریشه، نبود داده‌های کاربردی جهت مدیریت بیماری و با توجه به مشکلات اقتصادی و زیست‌محیطی کاربرد آفت‌کش‌های شیمیایی و در راستای اتخاذ تصمیمات مؤثر در مدیریت این عامل بیماری‌زا و با توجه به مشکلات اقتصادی و زیست‌محیطی کاربرد آفت‌کش‌های شیمیایی، این پژوهش با هدف امکان دست یافتن به کنترل زیستی پوسیدگی طوقه و ریشهٔ پسته با استفاده ازفرمولاسیون سویه‌های باکتری مؤثر در خاک انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه قارچ بیمارگر و سویه‌های زیست کنترل باکتری

قارچ *Phytophthora drechsleri* با شماره IPRI Ph K1 از کلکسیون بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی پژوهشکدهٔ پستهٔ کشور تهیه شد. از ۱۰۰۰ جدایهٔ باکتری کلکسیون زیست کنترل دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان که طی سال‌های ۸۸-۸۷ از ریزوسفر گیاه‌های مختلف سراسر ایران جداسازی شده بود، تعداد پنج سویهٔ باکتری متعلق به جنس *Psudomonas* با توجه به پژوهش‌های قبلی انجام‌شده توسط دانشجویان آن دانشگاه (Khatamidoost *et al*., 2014; Lagzian *et al*., 2013) که توانایی کنترل چندین بیماری (مانند پاخورهٔ غلات و نماتد ریشه گرهی پسته و غیره) را داشتند، در این پژوهش استفاده شد.

بررسی توانایی زیست کنترلی سویه‌های باکتری در شرایط آزمایشگاه

جهت بررسی توانایی زیست کنترلی سویه‌های بالا در شرایط آزمایشگاه از آزمون کشت متقابل، ترکیب‌های فرار ضد قارچی و برخی فعالیت‌های بیوشیمیایی نظیر تولید سیدروفور، سیانید هیدروژن و پروتئاز استفاده شد (Mahmudi mimand *et al*., 2016). پنج سویهٔ باکتری از کلکسیون کنترل زیستی دانشگاه ولی‌عصر (عج) رفسنجان، با توانایی زیست کنترلی برتر در شرایط آزمایشگاه، جهت استفاده در آزمون‌های گلخانه‌ای انتخاب شد که در جدول ۱ نام سویه و محل جمع‌آوری آن آمده است.

جدول ۱. کد و منبع سویه‌های باکتری استفاده‌شده در گلخانه
Table 1. Code and source of bacterial isolates used in the greenhouse

Isolate	Source	Code
Pseudomonas protegene	Tobacco rhizosphere (Switzerland)	CHA0
Pseudomonas fluorescens	Potato rhizosphere (Ardabil, Iran)	VUPf506
Pseudomonas fluorescens	Peach tree rhizosphere (North of Iran)	VUPf5
Pseudomonas sp.	Plantago rhizosphere (Tehran Iran)	T17-4
Pseudomonas sp.	Pine Rhizosphere (Tehran Iran)	VUPf760

بررسی‌های گلخانه‌ای

کاشت نهال

بذرهای پستهٔ رقم سرخس از مؤسسهٔ تحقیقات پستهٔ کشور در رفسنجان تهیه شد. کاشت بذرها بر اساس

www.SID.ir

Archive of SID

روش ارائه‌شده توسط Moradi (1998) در خاک استریل انجام شد.

مایه‌زنی قارچ عامل بیماری

برای مایه‌زنی نهال‌های شش‌ماهه، شش قرص میسلیومی از پرگنه‌های جوان (سه‌روزه) قارچ *P. drechsleri* روی ۲۵ گرم بذر برنج استریل به مدت یک ماه در دمای ۲۷ درجهٔ سلسیوس پرورش داده شد (Holmes & Benson, 1994). به‌منظور مایه‌زنی قارچ عامل بیماری، خاک سطحی گلدان‌ها برداشته و مایهٔ تلقیح (اینوکولوم) *P. drechsleri* در ناحیهٔ اطراف طوقه نهال‌های شش‌ماههٔ پسته (پنج گرم بذر برنج آلوده به بیمارگر به ازای هر کیلوگرم خاک گلدان) نهاده شد و دوباره با همان خاک پوشانده شد. برای گیاه شاهد بدون مایه‌زنی از برنج استریل استفاده شد.

در این پژوهش برای عامل زیست کنترل، از فرمولاسیون (پودر تالک ۱۰ گرم + CMC ۵ گرم + سبوس گندم ۱۰ گرم + ۸۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون 10^{12} سلول باکتری) استفاده شد.

ابتدا ترکیب‌های ذکر شده باهم به اندازهٔ نیاز (درنهایت دو گرم برای هر گلدان) مخلوط و سپس اتوکلاو شدند. پس از خنک شدن پودرهای اتوکلاو شده، سوسپانسیون باکتری‌های منتخب (با تنظیم جمعیت روی 10^{12} سلول باکتری در میلی‌لیتر) به فرمولاسیون زیر هود اضافه و به مدت ۸ ساعت در دمای اتاق زیر هود قرار داده شد تا آب اضافی تبخیر شود.

به‌منظور اعمال تیمار فرمولاسیون باکتری، دو گرم از هر فرمولاسیون در یک گودال کوچک کنار نهال تلقیح شده با قارچ عامل بیماری به طور هم‌زمان تعبیه، خاک آن برگردانده و آبیاری شد. گلدان‌ها در تناوب نوری ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی نگهداری شدند. دمای گلخانه بین ۳۰-۲۵ درجه سلسیوس متغیر بود. فاکتورهای مورداندازه‌گیری شامل ارتفاع ساقه، وزن تر و وزن خشک ساقه و ریشه و درصد مرگ‌ومیر نهال‌ها، ۴۵ روز پس از اعمال تیمارها ارزیابی شد.

نحوهٔ اندازه‌گیری شاخص‌های رشد

ارتفاع نهال‌ها از محل سطح خاک تا جوانهٔ انتهایی توسط خط‌کش در مقیاس سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. به‌منظور وزن کردن ریشه‌های خشک، پس از بیرون آوردن نهال‌ها از خاک و شستن ریشه با آب، قسمت‌های هوایی از ریشه‌ها جدا شد و ریشه‌ها درون پاکت‌های کاغذی که قبلاً وزن شده بودند، قرار داده شد. پاکت‌ها به درون آون با دمای ۶۰ درجهٔ سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت منتقل شدند، سپس وزن خشک ریشه محاسبه شد (Shahidi Bonjar *et al.*, 2004). برای تعیین تأثیر سویه‌های باکتری بر میزان وقوع بیماری از رابطهٔ Hokeberg *et al.* (1997) استفاده شد:

$$X = 100 - (100 \times A)/B$$

X: درصد وقوع بیماری، A: تعداد نهال‌های بیمار در هر تیمار، B: تعداد نهال‌های بیمار در تیمار شاهد آلوده.

محاسبه‌های آماری

تمام آزمایش‌ها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار (هر تکرار یک گلدان) و هر تکرار حاوی چهار نهال پسته رقم سرخس انجام شد. داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS(9.0) تجزیه‌وتحلیل آماری شدند و میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنهٔ دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شدند (Duncan & Ferris, 1983) .

نتایج

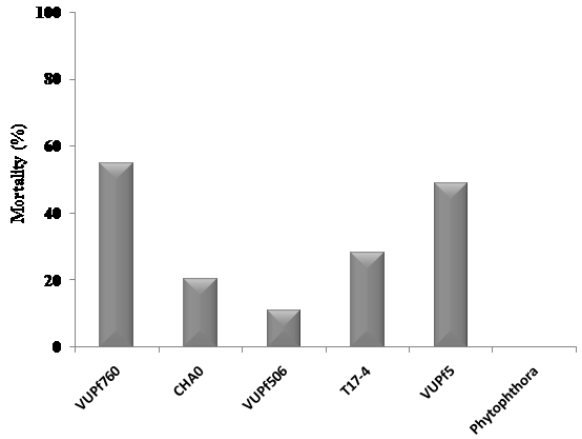
در آزمایش‌های گلخانه‌ای سویه‌های منتخب باکتری هم در مایه‌زنی با قارچ بیمارگر و هم به‌تنهایی توانا به تأثیرگذاری مثبت روی فاکتورهای رشدی نهال‌های پسته ازجمله ارتفاع، وزن‌تر و وزن خشک ریشه و اندام‌هایی هوایی و همچنین کاهش شدت بیماری‌زایی نهال‌ها بودند، به‌طوری‌که سویه‌های VUPF760 و VUPF506 با ۵۵ و ۱۱ درصد به ترتیب بیشترین و کمترین تأثیر را در کاهش مرگ‌ومیر ناشی از بیماری در گلخانه داشتند و نسبت به شاهد آلوده و سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. در نهال‌های مایه‌زنی شده با قارچ بیمارگر به‌تنهایی مرگ ۱۰۰ درصد نهال‌های پسته مشاهده شد (شکل ۱).

www.SID.ir

Archive of SID

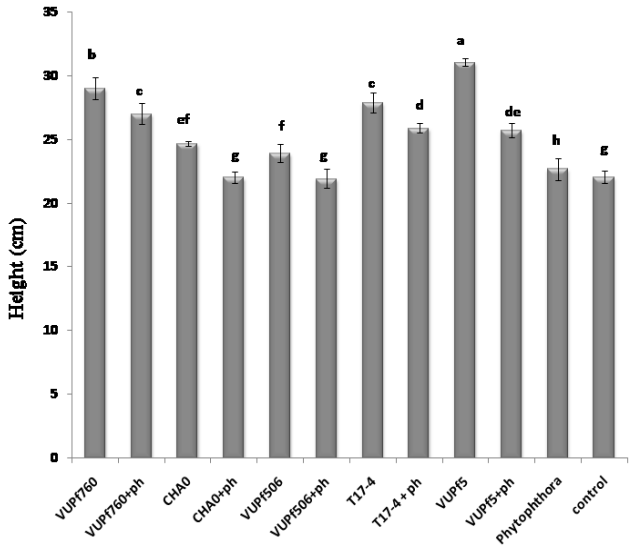
مقایسهٔ میزان تأثیر باکتری‌ها روی افزایش ارتفاع نهال‌های پسته نشان داد که سویهٔ VUPF5 باعث افزایش ۱/۴ برابری در ارتفاع نهال نسبت به شاهد سالم شد (شکل۲).

نتیجه‌های اندازه‌گیری وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی نیز نشان‌دهندهٔ افزایش قابل‌توجه فاکتورهای رشدی در گیاه‌ها تیمارشده با فرمولاسیون سویه‌های باکتری نسبت به شاهد سالم بود. سویهٔ باکتری VUPF5 که در برخی آزمون‌های سنجش زیستی مانند توانایی تولید سیانید هیدروژن، پروتئاز و سیدروفور موفق بود، موجب افزایش ۱/۲۷ برابری در وزن تر اندام هوایی نسبت به شاهد سالم (شکل ۳)، افزایش ۱/۱۴ برابری در وزن خشک اندام هوایی نسبت به شاهد سالم (شکل۴)، افزایش ۱/۲ برابری در وزن تر ریشه نسبت به شاهد سالم (شکل۵) و افزایش ۱/۱ برابری در وزن خشک ریشه نسبت به شاهد سالم شد (شکل۶) و به‌عنوان سویهٔ برتر در این پژوهش مطرح شد.



شکل ۱. درصد کاهش رخداد بیماری در نهال‌های پسته تلقیح شده با سویه‌های گوناگون *P. fluorescens* هم‌زمان با مایه‌زنی *Phytophthora drechsleri* تحت شرایط گلخانه‌ای

Figure 1. Disease occurrence percent in pistachio seedling (cv. Sarakhas) inoculated with *Phytophthora drechsleri* and *Pseudomonas fluorescens* strains, simultaneously, under greenhouse conditions.

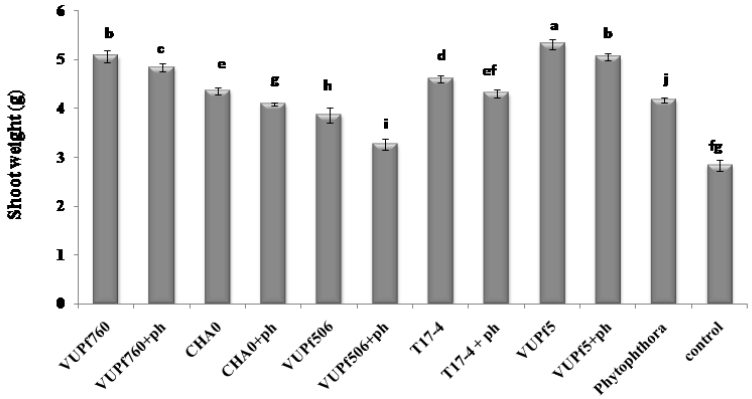


شکل ۲. تأثیر به‌کارگیری فرمولاسیون سویه‌های گوناگون *P. fluorescens* علیه بیمارگر *P. drechsleri* روی شاخص ارتفاع نهال‌های پستهٔ رقم سرخس، در توصیف آماری

Figure 2. Effect of different formulations of *P. fluorescens* isolates on the height of Sarakhas cultivar in inoculations with *P. drechsleri* under statistical description

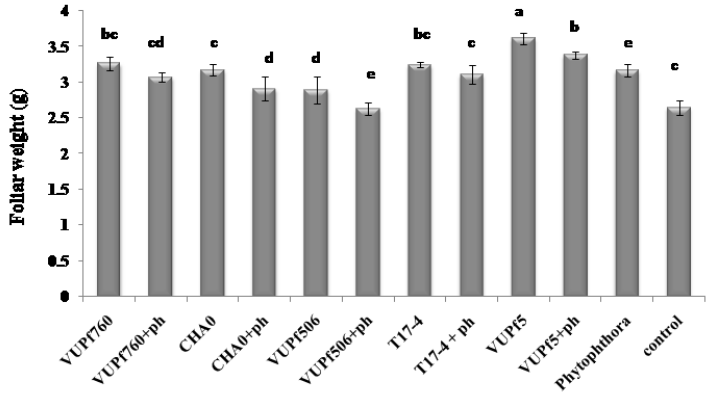
www.SID.ir

Archive of SID



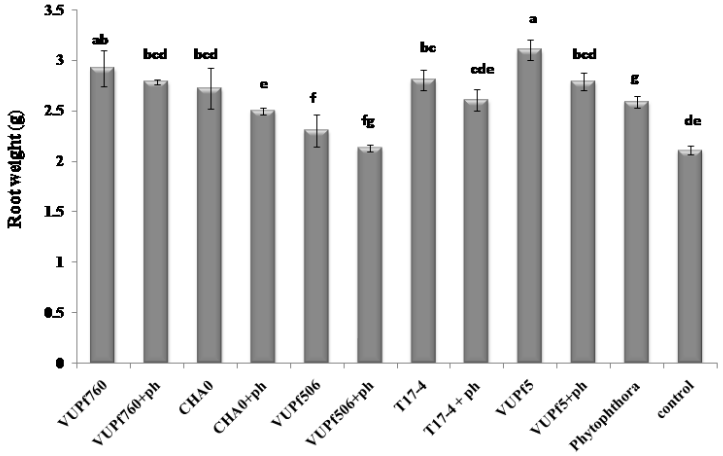
شکل ۳. تأثیر به‌کارگیری فرمولاسیون سویه‌های گوناگون *P. fluorescens* علیه بیمارگر *P. drechsleri* روی شاخص وزن تر اندام هوایی نهال‌های پستهٔ رقم سرخس، در توصیف آماری

Figure 3. Effect of different formulations of *P. fluorescens* isolates on the shoot fresh weight of Sarakhas cultivar in inoculations with *P. drechsleri* under statistical description



شکل ۴. تأثیر به‌کارگیری فرمولاسیون سویه‌های گوناگون *P. fluorescens* علیه بیمارگر *P. drechsleri* روی شاخص وزن خشک اندام هوایی نهال‌های پستهٔ رقم سرخس، در توصیف آماری

Figure 4. Effect of different formulations of *P. fluorescens* isolates on the foliar dry weight of Sarakhas cultivar in inoculations with *P. drechsleri* under statistical description

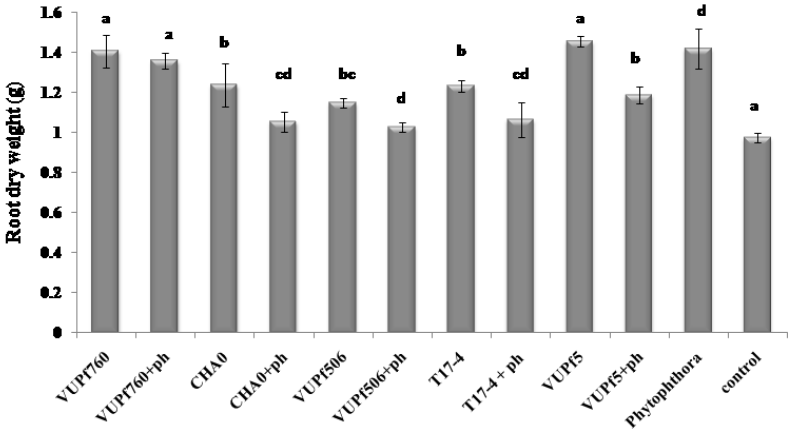


شکل ۵. تأثیر به‌کارگیری فرمولاسیون سویه‌های گوناگون *P. fluorescens* علیه بیمارگر *P. drechsleri* روی شاخص وزن تر ریشه نهال‌های پستهٔ رقم سرخس، در توصیف آماری

Figure 5. Effect of different formulations of *P. fluorescens* isolates on the root fresh weight of Sarakhas cultivar in inoculations with *P. drechsleri* under statistical description

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۶. تأثیر به‌کارگیری فرمولاسیون سویه‌های مختلف *P. fluorescens* علیه بیمارگر *P. drechsleri* روی شاخص وزن خشک ریشه نهال‌های پستهٔ رقم سرخس، در توصیف آماری

Figure 6. Effect of different formulations of *P. fluorescens* isolates on the root dry weight of Sarakhas cultivar in inoculations with *P. drechsleri* under statistical description

بحث

جنس *Pseudomonas* به‌عنوان یکی از غالب‌ترین میکروفلورهای هوازی ریشه‌گاه در بسیاری از گیاه‌ها معرفی می‌گردد. سویه‌های مختلف آن با جلوگیری از رشد عامل‌های بیماری‌زا در اثر تولید ماده‌هایی مانند آنتی‌بیوتیک، سیدروفور، سیانید هیدروژن، پروتئاز و همچنین از راه مستقیم با ساختن هورمون‌های گیاهی باعث برانگیختن گیاه، تسخیر ریشه و درنتیجه افزایش رشد گیاه می‌شوند (Abbas-Zadeh *et al.*, 2010; Kamilova *et al.*, 2005; Ahmadzadeh *et al.*, 2004).

بین جمعیت سودوموناس‌های فلورسنت و درجه کاهش بیماری‌های مختلف رابطه مستقیم مثبتی مشاهده می‌شود و با توجه به تمایل بالای باکتری‌های سودوموناس به ترشحات ریشه میزبان و نرخ سریع رشد، در رقابت با میکروارگانیسم‌ها، موفق‌تر عمل می‌نمایند. بر اساس نتیجه‌های حاصل از پژوهش (Mahmudi mimand *et al.*, 2016)، سویه‌های باکتری استفاده‌شده در پژوهش، توانایی متفاوتی در تولید سیانید هیدروژن (HCN) داشتند که بیشترین اندازه مربوط به سویهٔ VUPF5 بود. شاید یکی از دلیل‌های موفقیت دو سویهٔ VUPf760 و VUPf5 این باشد که مجموعه‌ای از عامل‌های زیست کنترلی در این دو سویهٔ فعال است. نتیجه‌های حاصل از بررسی شاخص‌های رشدی (ارتفاع نهال و همچنین وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه) نشان‌دهندهٔ افزایش این شاخص‌ها در سویهٔ باکتری VUPF5 نسبت به شاهد سالم بود که به‌عنوان سویهٔ برتر در این پژوهش مطرح شد، درحالی‌که سویهٔ VUPF506 با عدم تولید سیدروفور، کمترین مقدار تولید متابولیت‌های فرار، استقرار ناکافی و حداقل مقدار سیانید هیدروژن در فرایند زیست کنترل چندان موفق عمل نکرد و کمترین تأثیر را در کاهش شدت بیماری‌زایی و همچنین وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه و ارتفاع نهال داشت. نتیجه‌های پژوهش Tahmasbi *et al.* (2014) نیز نشان داد که کاربرد سویه‌های تولیدکنندهٔ سیدروفور در سنجش با شاهد باعث افزایش معنی‌دار میزان سبزینه و همچنین وزن خشک ریشه و اندام هوایی در گیاه ذرت شده است (Tahmasbi *et al.*, 2014). درمجموع و با توجه به مطلب‌های عنوان‌شده توسط دیگر پژوهشگران می‌توان عنوان نمود که جهت انتخاب و معرفی یک گونهٔ آنتاگونیست مناسب باید همگی ویژگی‌های آن مورد بررسی قرار گیرد و گونه‌ای برای آزمایش‌های مزرعه‌ای معرفی گردد که تا حد امکان دارای سازوکارهای مختلف و متفاوتی جهت کنترل بیمارگر موردنظر باشد.

استفاده از باکتری‌های آنتاگونیست ممکن است تحت شرایط مزرعه در کنترل بیماری تأثیری متوسط داشته باشد و یا بدون اثر باشد. پیش از رهاسازی عامل‌های زیست کنترل نیاز به کارهایی است که بتوان پایداری، کارایی و رشد عامل‌های یادشده را در شرایط

www.SID.ir

Archive of SID

آزمایشگاهی و طبیعی (گلخانه و مزرعه) علیه بیماری‌های گیاهی افزایش داد. ازاین‌روی سوسپانسیون باکتری‌های آنتاگونیست باید در حامل‌های معینی تثبیت شده و به‌صورت فرمولاسیون برای کاربرد آسان، سادگی حمل‌ونقل، نگهداری بلندمدت، حفظ توانایی زنده‌مانی، افزایش کارایی در مزرعه و تجاری‌سازی به‌کاررفته قرار گیرد (Nakkeeran, 2005). فرمولاسیون‌های آزمایشی باکتری‌های آنتاگونیست که بر پایهٔ گَرد تالک است در کاهش بیماری‌های گیاهی مؤثر بوده‌اند و در مقاله‌های فراوانی گزارش شده‌اند که با نتیجه‌های این بررسی هم‌خوانی دارد. کاربرد فرمولاسیون *Bacillus amyloliquefaciens* Fukumoto B190 در کنترل کپک خاکستری ناشی از قارچ *Botrytis elliptica* (Berk.) در شرایط گلخانه مؤثر شناخته شد (Chiou & Wu, 2003). فرمولاسیون پودر تالک دو سویهٔ *P. fluorescens* در کنترل *R. solani* مؤثر بوده است (Sabartnam & Traquir, 2002).

دو سویهٔ VUPf760 و VUPf5 باکتری *P. fluorescens* به‌عنوان سویه‌های برتر در این پژوهش معرفی شدند که با توجه به ویژگی‌های بررسی‌شده، می‌توان محیط کشت مناسب و اقتصادی برای باکتری‌های مذکور تعریف کرد. امید است که با به‌کارگیری این سویه‌ها به شکل کود زیستی در گیاه پسته و سایر گیاه‌ها بتوان شاهد افزایش رشد و محصول این گیاه‌ها باشیم.

EFERENCES

1. Abbas-Zadeh, P., Saleh-Rastin, N., Asadi-Rahmani, H., Khavazi, K., Soltani, A., Shoary-Nejati, R. & Miransari, M. (2010). Plant growth-promoting activities of *fluorescent pseudomonads*, isolated from the Iranian soils. *Acta Physiologiae Plantrum*, 32, 281-288.
2. Adesemoye, A. O. & Kloepper, J. W. (2009). Plant microbe's interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85, 1-12.
3. Ahmadzadeh, M., Sharifi Tehrani, A. & Talebi Jahromi, K. (2004). Study on Production of Some Antimicrobial Metabolites by flourescent pseudomonads. *Iranian Journal of Agriculture Science*, 35(3), 731-45.
4. Bora, T., Ozaktan, H., Gore, E. & Aslan, E. (2004). Biological control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis* by wettable powder formulations of the two strains of *Pseudomonas putida*. *Journal of Phytopathology*, 152, 471-475.
5. Chiou, A. L. & Wu, W. S. (2003). Formulation of *Bacillus amyloliquefaciens* B190 for control of lily grey mould (*Botrytis elliptica*). *Journal of Pathology*, 151, 13-18.
6. Fallahzadeh-Mamaghani, V., Ahmadzadeh, M. & Sharifi, R. (2009). Screening systemic resistance-inducing *fluorescent pseudomonads* for control of bacterial blight of cotton caused by *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum*. *Journal of Plant Pathology*, 91, 663-670.
7. Glick, B. R. (2014). Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help tofeed the world. *Microbiological Research*, 169, 30-39.
8. Gupta, C. P., Dubeg, R. C., Kang, S. C. & Maheshwari, K. (2001). Antibiosis mediated necro trophic effect of *Pseudomonas* GRCz against two fungal plant pathogens. *Current Science*, 81(1), 91-94.
9. Hokeberg, M., Gerhardson, B. & Johnsson, L. (1997). Biological control of cereal seed-borne diseases by seed bacterization with greenhouse-selected by bacteria. *European Journal of Plant Pathology*, 103, 25-33.
10. Holmes, K. A. & Benson, D. M. (1994). Evaluation of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* for biocontrol of *Phytophthora parasitica* on *Catharanthus roseus*. *Plant Disease Journal*, 78(2), 193-199.
11. Kamilova, F., Validov, S., Azarova, T., Mulders, I. & Lugtenberg, B. (2005). Enrichment for enhanced competitive plant root tip colonizers selects for a new class of biocontrol bacteria. *Environmental Microbiology*, 7 , 1809-1817.
12. Khatamidoost, Z., Jamali, S., Moradi, M. & Saberi Riseh, R. (2014). Effect of Iranian strains of *Pseudomonas* spp. on the control of root-knot nematodes on Pistachios. *Biocontrol Science and Technology*, 25, 291-301.
13. Kloepper, J.W. (1993). Plant Growth-promoting Rhizobacteria as biological control agents. In: F. Blaine Metling, Jr. (Ed.), *Soil Microbial Ecology, Application in Agricultural and Environmental Management*. New York: Marcel Dekker Inc., pp. 255-274.
14. Lagzian, A., SaberiRiseh, R., Khodaygan, P., Sedaghati, E. & Dashti, H. (2013). Introduced *Pseudomonas fluorescens* VUPf5 as an important biocontrol agent for controlling *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* the causal agent of take-all disease in wheat.*Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 1, 1-5.

www.SID.ir

Archive of SID

15. Liu, H., He, Y., Jiang, H., Peng, H., Huang, X., Zhang, X., Thomashow, L. S. & Xu, Y. (2007). Characterization of a phenazine- producing strain *Pseudomonas chlororaphis* GP72 with broad-spectrum antifungal activity from green pepper rhizosphere. *Current Microbiology*, 54, 302-306.
16. Ma, Y., Prasad, M. N. V. Rajkumar, M. & Freitas, H. (2011). Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotechnology Advances*, 29, 248-258.
17. Mahmudi mimand, B., Saberi Ryseh, R., Moradi, M., Alaei, H. & Mohammadi, A. H. (2016). Induction of plant defense response against *Phytophthora* crown and root rot in pistachio by *Pseudomonas fluorescens* strains. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 47(1), 103-105. (in Farsi)
18. Melin, P., Hakansson, S. & Schnurer, J. (2007). Optimisation and comparison of liquid and dry formulations of the biocontrol yeast *Pichia anomala* J121. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 73, 1008-1016.
19. Mirabolfathy, M., Cooke, D. E. L., Duncan, J. M., Williams, N. A., Ershad, J. & Alizadeh, A. (2001). *Phytophthora pistaciae* sp. nov. and *P. melonis* the principal causes of pistachio gummosis in Iran. *Mycological Research*, 105, 1166-1175.
20. Moradi, M. (1998). *Isolation and identification of Phytophthora species from root and crown of pistachio in Kerman and Fars provinces and resistance determination of root and crown among current pistachio cultivars.* M.Sc. dissertation, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Iran. (in Farsi)
21. Nakkeeran, S., Renukadev, P. & Marimuthu, T. (2005). Antagonistic potentiality of *Trichoderma viride* and assessment of its efficacy for the management of cotton root rot. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 38(3), 209-225.
22. Roberts, M. A. (2002). Actinomycetes, biocontrol, questions and answers. Available on internet at: http://www.palouse.net/ibs/micro2.htm
23. Sabaratnam, S. & Traquair, J. A. (2002). Formulation of a *streptomyces* biocontrol agent for the suppression of rhizoctonia damping-off in tomato transplants. *Biological Control*, 23, 245-253.
24. Saberi-Riseh, R., Sharifi-Tehrani, A., Khezri, M., Ahmadzadeh, M. & Nikkhah, M. J. (2006). Study on biocontrol of *Phytophthora citrophthora*, the causal agent of pistachio gummosis. *Acta Horticulture* (ISHS), 726, 627-630.
25. Shahidi Bonjar, G. H., Barkhordar, B., Pakgohar, N., Aghighi, S., Biglary, S., Rasid Farrokhi, P., Aminaii, M., Mahdavi, M. J. & Aghelizadeh, A. (2006). Biological control of *Phytophthora drechsleri* Tucker, The causal agent of pistachio gummosis, under greenhouse conditions by use of Actinomycetes. *Journal of Plant Pathology*, 5(1), 20-23.
26. Shahidi Bonjar, G. H., Fooladi, M. H., Mahdavi, M. J. & Shahghasi, A. (2004). Broadspectrim, a novel antibacterial from *Streptomyces* sp. *Biotechnology*, 3, 126-130.
27. Shirzad, A., Fallahzadeh-Mamaghani, V. & Pazhouhandeh, M. (2012). Antagonistic Potential of Fluorescent Pseudomonads and Control of Crown and Root Rot of Cucumber Caused by *Phythophtora drechsleri*. *Plant Pathology Journal*, 28(1), 1-9.
28. Tahmasbi, F., Lakzian, A., Khavazi, K. & Pakdin Parizi, A. (2014). Isolation, identification and evaluation of siderophore production in *Pseudomonas* bacteria and its effect on hydroponically grown corn. *Journal of Cell and Molecular Research*, 87-75, 1, 27.

www.SID.ir