Archive of SID

"نهال و بذر"
جلد ۱۹، شماره ۳، آذر ۱۳۸۲

ارزیابی استرین‌های *Streptomyces* برای مبارزه بیولوژیکی عامل بوته‌میری طالبی (*Phytophthora drechsleri*)

Evaluation of *Streptomyces* Strains as Biocontrol Agents for Cantaloup Wilt, (*Phytophthora drechsleri*)

شبنم حیدری فاروقی، حسن‌رضا اعتباریان، و حمیدرضا زمانی‌زاده

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

تاریخ دریافت: ۱۳۸۱/۸/۸

چکیده

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

برای بررسی امکان مبارزه بیولوژیکی با بیماری بوته‌میری جالیز که‌عامل آن قارچ *Phytophthora drechsleri* می‌باشد، ۱۳ استرین *Streptomyces* که هشت استرین آن‌ها از خاک اطراف ریشه بوته‌های جالیز مزارع و گلخانه‌های اطراف ورامین و پنج استرین که قبلاً از خاک اطراف ریشه فلفل جدا شده بود مورد استفاده قرار گرفت. برای بررسی اثر آنتاگونیستی استرین‌ها در آزمایشگاه، از روش کشت متقابل و سلوفان استفاده شد. نتایج نشان داد که همه استرین‌های *Streptomyces* در روش کشت متقابل و سلوفان رشد عامل بیماری را کاهش دادند و این کاهش رشد در استرین‌های مختلف متفاوت بود. درصد کاهش رشد در روش متقابل بین ۳۳/۰۱ تا ۹۳/۰۷ درصد و در روش سلوفان بین ۳۶/۱۸ تا ۱۰۰ درصد متغیر بود. در شرایط گلخانه کاربرد مخلوط استرین‌های *Streptomyces* روی سبوس گندم به نسبت ۵ گرم به ازای یک کیلوگرم خاک که با مخلوط شش استرین *P.drechsleri* آلوده شده بود موجب شد که تعداد گیاهان سالم ۴۳/۰۷ درصد نسبت به شاهد آلوده افزایش یابد. آغشته کردن بذر طالبی با مخلوط سوسپانسیون استرین‌های *Streptomyces* به میزان متوسط $۱۰^{۶} \times ۷/۳$ اسپور در هر بذر نیز موجب افزایش درصد گیاهان سالم به میزان ۵۰/۲۱ درصد گردید. جمعیت *Streptomyces* در طول رشد گیاه تقریباً به صورت یکنواختی کاهش یافت.

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

این مقاله براساس قسمتی از نتایج به دست آمده از اجرای طرح تحقیقاتی شماره ۳۱۸-۱-۷۲۱ دانشگاه تهران تهیه گردیده است و بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بیماری بوته‌میری جالیز که عامل آن *Phytophthora drechsleri* Tucker می‌باشد. به گیاهان مختلف جالیزی از قبیل خیار، خربزه، طالبی، هندوانه و کدو (ارشاد و مستوفی‌پور، ۱۳٤۸) حمله می کند و در مناطق مختلف ایران شایع است (ارشاد، ۱۳۷٤). عامل بیماری در صورت وجود شرایط مساعد می‌تواند بوته‌ها را در تمام مراحل رشد مورد حمله قرار دهد و سبب مرگ و از پای در آمدن آن‌ها شود. در صورتی که عامل بیماری در مرحله گیاهچه گیاه را مورد حمله قرار دهد محل حمله قارچ باریک و نرم می گردد و گیاه از بین می‌رود. در مرحله بعدی رشد، بوته‌های مورد حمله ناگهان پژمرده شده و در حالتی که برگ‌ها سبز هستند می‌خشکند که آن را به اصطلاح سبز خشک می‌نامند (اعتباریان، ۱۳۸۱؛ ارشاد و مستوفی‌پور، ۱۳٤۸). علوی (۱۳۵۲) خسارت بیماری را ۲۰ تا ۲۵ درصد تخمین زده است. در زراعت‌های کرتی اصفهان خسارت بوته‌میری حتی تا صددرصد کل بوته‌های مزرعه نیز برآورد شده است (بهداد، ۱۳۵۹). آماربرداری‌هائی که در سال ۱۳۵۵ از ٦۰ مزرعه جالیزی در مناطق ورامین و گرمسار به عمل آمد، نشان داد که ۳۵ درصد بوته‌های طالبی، ۲۵ درصد بوته‌های خیار، ۱۲ درصد بوته‌های خربزه، ۳ درصد بوته‌های هندوانه و یک درصد بوته‌های کدو در اثر بیماری از بین رفته بودند (اعتباریان، گزارش منتشر نشده). در سال‌های اخیر با گسترش کشت گلخانه‌ای این محصولات، بیماری در گلخانه نیز خسارت زیادی وارد می کند.

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

www.SID.ir

Archive of SID

(Munnecke, 1984). از گونه *S. parvullus* آنتی‌بیوتیکی ضدقارچی استخراج گردید که علیه Leonian *P. Capsici* عامل پوسیدگی ریشه و طوقه‌فلفل مؤثربود (Lee *et al.*, 1990). همچنین ماده Concanamycin B که از *S. neyagawaensis* به دست می‌آید نیز در کنترل بیماری فوق مؤثر بوده است (Kim *et al.*, 1993). ماده Tubercidin نیز که از استرین A50 *S. violaceoniger* به دست می‌آید در کنترل این قارچ در شرایط آزمایشگاه مؤثر می‌باشد (Hwang and Kim, 1995). از همین استرین سه آنتی‌بیوتیک جداسازی و خالص‌سازی گردید که خاصیت ضدقارچی علیه *P. Capsici*، *Magnaporthe grisea* و Kuhn *Rhizoctonia solani* داشتند (Hwang and Kim, 1995). در مقالات زیادی از *Streptomyces* ها به عنوان عوامل کنترل گونه‌های *Phytophthora* استفاده شده است (Hardy and Sivasithamparam, 1995; Broadbent *et al.*, 1971). محققان اثرات بازدارنده *S. violascens* را در کنترل پوسیدگی فیتوفترایی ریشه اکالیپتوس که در اثر *P. Cinamonai* ایجاد می‌شود (EL- Tarabily *et al.*, 1996) و همچنین اثر *Streptomyces sp.* را در کنترل *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp-Maharla گزارش کرده‌اند (Bolton, 1980). ضمناً گونه *S. griseoviridis* در کاهش پوسیدگی فیتوفترایی ریشه روی مرکبات مؤثر بود. این آنتاگونیست‌ها بین ۷۶ تا ۱۰۰ درصد قادر به کلنیزاسیون ریشه‌های فلفل، گوجه‌فرنگی و مرکبات بودند (Nemec *et al.*, 1996). قارچ‌کش بیولوژیکی به صورت تجاری به نام مایکواستاپ (Mycostop) در فنلاند تهیه شده است. این ماده به صورت پودر وتابل تهیه شده است و با روش افزودن به خاک یا تیمار بذر علیه *Fusarium* spp. روی گندم، میخک، ژربرا، گیاهان جالیزی و *Botrytis cinerea* روی کاهو موثر است (Mohammadi, 1994). در این بررسی فعالیت آنتاگونیستی چند استرین *Streptomyces* که از اطراف ریشه بوته‌های فلفل منطقه ویرجینیا در جنوب استرالیا جدا شده بود (اعتباریان و همکاران، ۱۳۷۹) و همچنین چند استرین که از اطراف ریشه‌های جالیز منطقه ورامین به دست آمد علیه قارچ *P. drechsleri* مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

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

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

www.SID.ir

Archive of SID

پلاستیکی مصرف نشده به آزمایشگاه منتقل شد. نمونه‌های خاک به مدت ۷ روز روی میز آزمایشگاه قرار داده شدند تا کاملاً خشک شدند. به منظور کاهش باکتری‌ها و قارچ‌های همراه، نمونه‌های خاک خشک شده به مدت ۲ ساعت در دمای ٤٥درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند (Ensign,1991;William *et al*.,1972). از روش سری رقت و با استفاده از محیط کشت انتخابی (Dhingra and Sinclair, 1995) Casein Glycerol Medium (CGM) جداسازی صورت گرفت و شناسائی تا حد جنس انجام شد (Ensign, 1991). علاوه بر استرین‌های به دست آمده از آزمایش فوق از ٥ استرین با نام‌های A13، A15، A20، A24 و STL که از خاک اطراف ریشه‌های فلفل در گلخانه نزدیک ویرجینیا در جنوب استرالیا جدا شده بودند استفاده شد (Istifadah, 1997؛ Etebarian *et al*., 2000؛ Na Lampang, 1994).

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

روش کشت متقابل

در این آزمایش از تشتک‌های به قطر ۹ سانتی‌متر حاوی ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت 1/5M32 (Sivasitham *et al*., 1979) استفاده شد. نیمی از سطح محیط کشت به وسیله لوپ سترون کاملاً با اسپورهای *Streptomyces* آغشته شد. این اسپورها از سطح محیط کشت ۷ روزه برداشت شده بود. تشتک‌های پتری شاهد، تا نیمه به جای *Streptomyces* با آب مقطر استریل آغشته شد. پس از نگهداری تشتک‌ها در دمای ۲٦ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز، یک قرص به قطر ٦ میلی‌متر از حاشیه کشت سه روزه عامل بیماری در طرف دیگر تشتک‌ها به فاصله یک سانتی متر از لبه قرار داده شد. تشتک‌ها در دمای ۲٦ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. رشد شعاعی عامل بیماری در فاصله‌های زمانی ۲٤، ٤٨، ۷۲، ۹٦ و ۱۲۰ ساعت پس از مایه‌زنی اندازه‌گیری و یادداشت شد. درصد بازداری از رشد *Ph. drechsleri* با توجه به شاهد در فاصله ۹٦ ساعت بعد از مایه‌زنی به دست آمد و همچنین پس از ۷ روز منطقه بازداری (Inhibition zone) در اطراف کلنی *Streptomyces* اندازه‌گیری شد. آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی شامل ۱۳ تیمار در چهار تکرار انجام شد. داده‌های به دست آمده از درصد بازداری پس از تبدیل با استفاده از Arc Sin $\sqrt{y}$ (درصد بازداری = y) در محاسبات آماری منظور شدند (Little and Hills, 1978). تجزیه آماری با استفاده از نرم‌افزار MSTATC و گروه‌بندی تیمارها با استفاده از آزمون چنددامنه دانکن ($P < 0.01$) انجام شد.

روش سلوفان

در این آزمایش ورقه‌های سلوفان (به قطر ۹۰ میلی‌متر) که لایه‌ای کاغذهای صافی گذاشته

www.SID.ir

Archive of SID

شده بودند در آب مقطر بـه مـدت ۲۰ دقیقـه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار $\frac{1}{2}$ آتمسفر اتوکلاو گردید. سپس روی تشـتک‌های حـاوی محیـط کشـت M32 $\frac{1}{5}$ قـرار داده شـدند و بـه وسیله لوپ سـترون سـطح ورقـه‌های سـلوفان بـا اسـپورهای ۷ روزه کشـت اسـترین‌های *Streptomyces* کاملاً آغشـته شد. تشـتک‌های پتری در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد بـه مـدت ۷ روز نگهداری و سپس کاغذ سلوفان برداشته شد و یک قرص به قطر ٦ میلی‌مـتر ازکشـت ۳ روزه عامل بیماری در مرکز تشـتک‌ها قـرار داده شـد. تشتک‌ها دوباره در دمای ۲٦ درجه سـانتی‌گـراد نگـهداری شـدند. قطـر کلنـی عـامل بیمـاری در فاصله زمانی ۲٤ ساعت تا زمان پـر شـدن سـطح تشتک‌های شاهد اندازه‌گیری و درصد بـازداری در زمان‌هـای ۷۲، ۹٦ و ۱٤٤ سـاعت پـس از مایه‌زنی در مقایسه با شاهد به دست آمد. تجزیـه آماری شبیه آزمایش قبلی بود.

بررسـی اثـر جدایـه‌های *Streptomyces* در کنـترل بیماری بوته‌میری جالیز

افزودن مخلوط مایهٔ اسـترین‌های *Streptomyces* بـه خاک

برای تهیه مایهٔ *Streptomyces*، سبوس گندم در کیسه پارچه‌ای ریخته شد. سپس به مـدت ۱۰ دقیقـه در آب خیسـانده و بـا فشـردن آن آب اضـافی خـارج گردیـد. معـادل حجـم ۵۰۰ سـانتی‌متر مکعـب سـبوس مرطـوب در ارلن‌مایرهای یک لیتری ریخته و سه روز متوالی هر روز به مدت ۳۰ دقیقـه در دمـای ۱۲۱ درجـه سانتی‌گراد در اتوکلاو سترون شد. از کشـت ۱۰ روزه اسـترین‌های *Streptomyces* روی محیـط کشت CGM برای افزودن به ارلن‌مایرها استفاده گردید. برای هـر ارلـن نصـف محیـط کشـت از یک تشتک پتری ۹ سـانتی‌متری کـه پوشـیده از کلنی *Streptomyces* بود اضافه شد. ارلن‌مایرها در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته نگهداری شدند.

در ایـن آزمـایش از مخلـوط اسـترین‌های STL، A24، A20، A15، A13، S3NA، S2VF، SE، S3B، S1IC، S1IB و S1IA استفاده گردید. بدین ترتیب که مقدار مساوی از هر ۱۳ جدایه با هم مخلوط و به نسبت ۵ گرم بـه ازای یک کیلوگرم خـاک اضافـه شـد. تیمارهـا عبارت بودند از: شاهد غیرآلوده، شـاهد آلـوده، شاهد غیرآلوده + سبوس گندم سترون، مخلـوط استرین‌های *Streptomyces* به تنـهائی، مخلـوط اسـترین‌های *P. drechsleri* + *Streptomyces* ضمنـاً بـا اسـتفاده از روش سـری‌رقّت (dilution method) جمعیـت *Streptomyces* تعیین گردید. بدین ترتیب که ابتـدا میزان یـک گرم از مخلوط جدایـه‌ها توزیـن شـد و از رقّـت ۱×۱۰^{-۷} مقـدار یـک میلی‌لیـتر روی محیـط CGM به طور یکنواخت پخش شد. تعداد شش تشـتک پـتری بـرای تعیین CFU (تعـداد کلنـی باکتری *Streptomyces* رشد کرده از یک گرم مایه باکتری) استفاده شد. تعداد کلنی‌های ظـاهر شده پس از ۱٤ روز شمارش گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

برای تهیه مایه *P. drechsleri*، میزان ۱۰۰ گرم لوبیا سفید در ارلن‌مایر ۵۰۰ میلی‌لیتر ریخته شد و به هر ارلن ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و در سه روز متوالی هر روز به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ آتمسفر سترون گردید. پس از سرد شدن به هر ارلن‌مایر ٤ قطعه از محیط کشت آرد ذرت آگار (CMA) حاوی میسلیوم عامل بیماری، به قطر ٦ میلی‌متر اضافه گردید و در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ روز در انکوباتور نگهداری گردید. مایه قارچ *P. drechsleri* به نسبت ۵ گرم به ازای یک کیلوگرم خاک به نسبت مساوی از هر شش استرین (Pd1, Pd2, Pd3, Pd4, Pd5, Pd6) اضافه شد و برای تعیین cfu مایه تلقیح یک گرم از مخلوط مایه تلقیح استرین‌های فوق توزین و رقت ۱×۱۰^{-۳} از آن تهیه شد و میزان یک میلی‌لیتر از این رقت روی محیط انتخابی BNPRAH (Masago, 1977) به صورت یکنواخت پخش شد. تعداد ٦ تشتک پتری برای این منظور در نظر گرفته شد و تعداد کلنی‌های ظاهر شده پس از یک هفته شمارش گردید. آزمایش در قالب یک طرح کامل تصادفی شامل ۵ تیمار و ۳ تکرار انجام شد. هر تکرار شامل یک گلدان به قطر ۹ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۳ سانتی‌متر بود. خاک گلدان‌های آزمایشی (۱ قسمت خاک مزرعه + ۳ قسمت خاک‌برگ) سه بار در سه روز پی در پی اتوکلاو شد. بذر طالبی سبز ورامین پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت ٤ دقیقه ضدعفونی گردید و تعداد ٦ بذر در هر گلدان کاشته شد. گلدان‌ها در تناوب نوری ١٤ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی نگهداری شدند. دمای روز حداکثر ۲۷ و حداقل ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دمای شب حداکثر ۲۲ و حداقل ۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. به هر گلدان روزانه حدود ۲۰ میلی‌لیتر آب داده شد. تعداد گیاهچه‌های سالم و ارتفاع گیاهچه‌ها ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۵۰ روز پس از کاشت شمارش و اندازه‌گیری شد.

آغشته کردن بذر با مخلوط سوسپانسیون استرین‌های *Streptomyces*

در این بررسی از استرین‌های *Streptomyces* که قبلاً ذکر شد استفاده گردید. استرین‌های *Streptomyces* ده روز قبل روی محیط CGM کشت و در انکوباتور با دمای ٢٦ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ روز نگهداری شدند. جهت تهیه سوسپانسیون *Streptomyces* مقدار ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون به تشتک پتری اضافه شد و با لوپ سترون سوسپانسیونی از اسپور تهیه گردید و رقّت تقریبی ۱×۱۰^{۸} اسپور در میلی‌لیتر برای ۱۳ استرین تهیه شد (Bolton, 1978). بذر طالبی سبز ورامین پس از ضدعفونی به مدت ۳۰ دقیقه در سوسپانسیون اسپور *Streptomyces* نگهداری شدند و سپس برای خشک شدن زیر هود قرار داده شدند (Jones and Samac, 1996). برای تعیین cfu

www.SID.ir

Archive of SID

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

تجزیه آماری

در آزمایش‌هائی که در محیط کشت انجام گردید از طرح کاملاً تصادفی استفاده گردید و درصد کاهش رشد با توجه به مساحت کلنی تعیین گردید و درصدهای به دست آمده پس از تبدیل $\text{ArcSin}\sqrt{x}$ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. در آزمایش‌های گلخانه‌ای نیز از طرح کاملاً تصادفی استفاده گردید. درصد گیاهچه سالم پس از تبدیل با استفاده از فرمول فوق در محاسبات آماری منظور شد. در مورد ارتفاع گیاهچه داده‌های اصلی در محاسبات آماری منظور گردید. گروه‌بندی تیمارها با استفاده از آزمون چنددامنه دانکن انجام شد (Little and Hills, 1978).

نتایج

جداسازی استرین‌های Streptomyces

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

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

www.SID.ir

Archive of SID

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

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

نام استرین Strain name	گیاهان میزبان	Host	سال Year	محل جغرافیایی	Orgin
S1IA	خیار	Cucumber	1980	خاک گلخانه، شریف‌آباد	Sharifabad (G)
S1IB	خیار	Cucumber	1980	خاک گلخانه، شریف‌آباد	Sharifabad (G)
S1IC	خیار	Cucumber	1980	خاک گلخانه، شریف‌آباد	Sharifabad (G)
S1ID	خیار	Cucumber	1980	خاک گلخانه، شریف‌آباد	Sharifabad (G)
SE	طالبی	Cantaloup	1980	خاک مزرعه، شریف‌آباد	Sharifabad (F)
S3B	خیار	Cucumber	1980	خاک گلخانه، کریم‌آباد	Karimabad (G)
S2VF	خیار	Cucumber	1980	خاک گلخانه، کریم‌آباد	Karimabad (G)
S3NA	خیار	Cucumber	1980	خاک گلخانه، کریم‌آباد	Karimabad (G)

G: Greenhouse
F: Field

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

بررسی اثر *Streptomyces* روی رشد قارچ عامل بیماری به روش کشت متقابل

همانطوری که در جدول ۲ ملاحظه می‌شود به احتمال ۹۹/۹ درصد در روش کشت متقابل بین استرین‌های *Streptomyces* در جلوگیری از رشد میسلیوم *P. drechsleri* اختلاف معنی‌دار وجود داشت که مقایسه میانگین‌ها در جدول ۳ مشاهده می‌شود. همانطوری که از این جدول استنباط می گردد استرین S1ID با ۹۳/۰۷ درصد بازداری بیشترین تأثیر را در جلوگیری از رشد میسلیوم عامل بیماری داشت. استرین A24 با ۸۶/۲۸ درصد بازداری در گروه دوم و استرین‌های A20 و S1IB به ترتیب با ۷۲/۳۷ و ۷۱/۴۳ درصد بازداری در گروه سوم قرار گرفتند. ضمناً میانگین فاصله بازداری در S1ID بیشترین میزان بازداری را داشت و همچنین استرین A24 با ۱۶/۵ میلی‌متر در درجه دوم اهمیت قرار داشت.

بررسی اثر *Streptomyces* روی رشد قارچ عامل بیماری به روش سلوفان

بین استرین‌های *Streptomyces* از نظر ترشحات مایع خارج سلولی در جلوگیری از رشد میسلیوم عامل بیماری به احتمال ۹۹/۹ درصد اختلاف معنی‌دار وجود داشت (جدول ٤). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها در جدول ٥ مشاهده می‌شود. استرین‌های S1IB و A24 بیشترین تأثیر را در جلوگیری از رشد

www.SID.ir

Archive of SID

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

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

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

*** = P < 0.001

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

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

Streptomyces strains	میانگین درصد بازداری از رشد % Growth inhibition	میانگین حلقه بازداری Inhibition zone (mm)
S1ID	93.07 a	26.75 a
A24	86.28 b	16.50 b
A20	72.37 c	9.50 c
S1IB	71.43 c	11.25 c
STL	69.55 cd	10.25 c
S1IA	69.42 cd	11.25 c
S1IC	68.85 cd	11.25 c
A13	68.47 cd	9.00 c
S3B	66.81 cd	8.25 c
SE	66.65 cd	6.75 c
A15	63.23 d	2.75 d
S2VF	41.63 e	0.00 d
S3NA	33.01 f	0.00 d

Data are means of four replicates. اعدادی که در متن جدول آمده‌اند میانگین چهار تکرار هستند.

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

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

www.SID.ir

www.SID.ir

جدول ٤ـ تجزیه واریانس مربوط به اثر ترشحات مایع خارج سلولی استرین‌های *Streptomyces* در جلوگیری از رشد میسلیوم *P. drechsleri* در زمان‌های مختلف پس از مایه‌زنی با روش سلوفان

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

S. O. V.	منبع تغییرات	درجه آزادی d.f.	۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی 72h after inoculation			۹۶ ساعت پس از مایه‌زنی 96h after inoculation			۱٤٤ ساعت پس از مایه‌زنی 144h after inoculation		
			SS	MS	F	SS	MS	F	SS	MS	F
Streptomyces strains	جدایه	12	21661.861	1805.155	2700.410***	21875.468	1822.956	906.165***	14718.522	1226.544	416.749***
Error	خطای آزمایشی	39	26.071	26.071		78.457	2.012		114.782	2.943	
Total	کل	51	2994.244			33720.997			14833.304		
C. V. %				1.08			1.86			2.27	

*** P = < 0.001

Archive of SID

Archive of SID

میسلیوم عامل بیماری داشته و با ۱۰۰ درصد بازداری از نظر آماری در گروه اول قرار گرفتند. قرص *Ph.drechsleri* در استرین‌های S1IB و A24 که بعد از برداشت سلوفان به هیچ وجه رشد نکرده بود پس از انتقال به محیط کشت تازه، توانائی رشد داشتند. رشد عامل بیماری روی محیط تازه نشان‌دهنده این است که مواد مترشحه از *Streptomyces* به محیط کشت خاصیت قارچ‌کشی ندارد بلکه خاصیت Fungistasis دارد. عامل بیماری روی محیط تازه در مقایسه با شاهد دو روز دیرتر رشد کرد و در مقایسه با شاهد که تشتک پتری ۹ سانتی‌متری را ۵ روزه می‌پوشاند، ۷ روزه تشتک پتری را پوشاند. همچنین ترشحات مایع خارج سلولی استرین‌های A13، A20، STL، S3B و SE موجب شد که میسلیوم‌های رشد کرده بسیار ظریف و نازک شوند و به طور کلی در مقایسه با شاهد تراکم میسلیوم‌ها کمتر بود.

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

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

Streptomyces strains	میانگین درصد بازداری از رشد % Growth inhibition		
	72 h	96 h	144 h
S1IB	100.00 a	100.00 a	100.00 a
A24	100.00 a	100.00 a	100.00 a
S1IC	99.49 b	99.72 b	99.87 ab
S1ID	99.39 b	99.96 b	99.84 ab
S1IA	99.1 bc	99.5 b	99.77 ab
S2VF	99.1 bc	99.5 b	99.77 ab
SE	99.1 bc	99.43 b	88.08 d
A20	98.56 cd	99.21 b	99.27 b
A13	98.17 d	98.36 c	85.84 d
STL	95.69 e	93.24 e	93.26 c
S3B	95.46 e	95.56 d	91.83 c
A15	42.36 f	29.44 f	48.09 e
S3NA	10.36 g	18.69 g	36.18 f

اعدادی که در متن جدول آمده‌اند میانگین چهار تکرار هستند. Data are means of four replicates.

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

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

www.SID.ir

Archive of SID

تأثیر استرین‌های *Streptomyces* در کنترل بیماری بوته‌میری جالیز

افزودن مخلوط مایهٔ استرین‌های *Streptomyces* به خاک

در این آزمایش جمعیت (cfu/g) مخلوط مایهٔ استرین‌های *Streptomyces*، $۵/۷\times۱۰^{۱۰}$، جمعیت پروپاگول (cfu/g) *P. drechsleri* در مخلوط مایهٔ استرین‌ها $۲/۸\times۱۰^{۵}$ و pH خاک در ابتدای آزمایش ۶/۷۲ بود. به احتمال ۹۹/۹ درصد بین تیمارهای مورد بررسی از نظر گیاهان سالم و ارتفاع گیاهچه در ۲۰ روز پس از کاشت، وزن تر و خشک اندام هوائی اختلاف معنی‌دار وجود داشت (جدول‌های ۶ و ۷) که مقایسه میانگین‌ها در جدول ۸ آورده شده است. تیمار شاهد غیرآلوده (شاهد سالم) همراه با سبوس و *Streptomyces* به تنهائی با ۱۰۰ درصد گیاهان سالم از نظر آماری در گروه اول قرار داشتند و تیمار *P. drechsleri* همراه با *Streptomyces* پس از آن‌ها با ۴۳/۰۷ درصد گیاهان سالم در گروه بعدی قرار داشت. تیمار شاهد آلوده با ۱۰۰ درصد تلفات گیاهچه‌های طالبی از نظر آماری در گروه آخر قرار دارد. ارتفاع گیاه و وزن تر اندام هوائی در شاهد آلوده از سایر تیمارها کمتر بود (جدول ۸).

جدول ۶ـ تجزیه واریانس اثر استرین‌های *Streptomyces* در وقوع بیماری بوته‌میری طالبی در روش افزودن مخلوط مایه استرین‌های *Streptomyces* به خاک

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

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

C.V. = % 5.97
*** = P < 0.001

جدول ۷ـ تجزیه واریانس اثر استرین‌های *Streptomyces* در میزان وزن تر و خشک اندام‌های هوایی در روش افزودن مخلوط مایه استرین‌ها به خاک

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

منبع تغییرات		درجه آزادی	ارتفاع گیاه Plant height			وزن تر اندام هوائی Fresh weight			وزن خشک اندام هوائی Dry weight		
S. O. V.		d.f.	SS	MS	F	SS	MS	F	SS	MS	F
Treatment	تیمار	4	126.900	31.748	15.049***	17.304	4.326	54.908***	1.215	0.304	7.157**
Error	خطای آزمایشی	10	21.096	2.110		0.788	0.079		0.424	0.042	
Total	کل	14	148.087			18.092			1.639		
C. V. %				13.57			9.87			17.00	

** = P < 0.001 *** = P < 0.001

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۸ـ تأثیر مخلوط استرین‌های *Streptomyces* در کنترل بیماری بوته‌میری طالبی (تیمار خاک)

Table 8. Effects of the mixture of *Streptomyces* strains on control of cantaloup wilt (soil treatment test)

تیمار Treatments		درصد گیاهان سالم % Healthy plant	ارتفاع گیاهچه‌ها Plant height (cm)	وزن تر Shoot fresh weight (g)	وزن خشک Shoot dry weight (g)
Healthy control	شاهد غیرآلوده	——	13.47 a	10.64 a	2.12 a
Infected control	شاهد آلوده	0 c	5.13 b	0 b	0 b
Healty control + bran	شاهد غیرآلوده+سبوس	100 a	11.87 a	10.98 a	1.16 a
Streptomyces		100 a	12.23 a	11.89 a	1.16 a
P. drechsleri+*Strotomyces*		43.07 b	10.81 a	10.62 a	1.00 ab

Data are means of three replicates. اعدادی که در متن جدول آمده‌اند، میانگین سه تکرار هستند.

میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف مختلف نشان داده شده‌اند با آزمون چنددامنه دانکن در سطح $P < 0.01$ با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند.

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

آغشته کردن مخلوط استرین‌های *Streptomyces* به بذر

میانگین cfu/g مخلوط استرین‌های *Streptomyces* چسبیده به بذر $۷/۳\times۱۰^{۶}$ و جمعیت *P. drechsleri* در مخلوط مایهٔ استرین‌ها cfu/g $۲/۸\times۱۰^{۵}$ بود. به احتمال ۹۹/۹ درصد بین تیمارها از نظر درصد گیاهان سالم و ارتفاع گیاهچه‌ها و وزن تر و خشک اندام هوائی اختلاف معنی‌دار وجود داشت. (جدول‌های ۹ و ۱۰). میانگین ارتفاع گیاهچه‌ها و درصد گیاهان سالم در تیمارهای مختلف در جدول ۱۱ ملاحظه می‌شود.

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

جدول ۹ـ تجزیه واریانس اثر استرین‌های *Streptomyces* در وقوع بیماری بوته‌میری طالبی در روش آغشته کردن بذر به سوسپانسیون مخلوط استرین‌ها

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

S. O. V.	منبع تغییرات	d.f.	SS	MS	F
Streptomyces	استرین‌ها	3	16415.796	5471.932	596.720***
Error	خطای آزمایشی	8	73.360	9.170	
Total	کل	11	16489.156		

C.V. = % 5.26

*** = $P < 0.001$

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱۰ـ تجزیه واریانس اثر مخلوط استرین‌های *Streptomyces* در میزان ارتفاع گیاه و وزن تر و خشک اندام‌های هوایی در روش افزودن مخلوط استرین‌ها به خاک

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

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

** = P < 0.01
*** = P < 0.001

جدول ۱۱ـ تأثیر مخلوط استرین‌های *Streptomyces* در کنترل بیماری بوته‌میری طالبی (تیمار بذر)

Table 11. Effects of the mixture of *Streptomyces* strains on control of cantaloup wilt (seed treatment test)

تیمار Treatments		درصد گیاهان سالم % healthy plant	ارتفاع گیاهچه‌ها Plant height (cm)	وزن تر Shoot fresh weight (g)	وزن خشک Shoot dry weight (g)
Healthy control	شاهد غیرآلوده	——	13.60 a	23.71 a	2.23 a
Infected control	شاهد آلوده	0 c	4.72 b	0 b	0 b
Healty control + bran	شاهد غیرآلوده+سبوس	100 a	13.00 a	23.29 a	1.91 a
Streptomyces		100 a	13.51 a	16.65 a	1.64 a
P. drechsleri+Strotomyces		50.21 b	12.91 a	16.10 a	1.8 a

اعدادی که در متن جدول آمده‌اند، میانگین سه تکرار هستند.
Data are means of three replicates.

میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف مختلف نشان داده شده‌اند با آزمون چنددامنه دانکن در سطح P < 0.01 با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند.
Significant differences are denoted by different letters within each column (P < 0.01).

جمعیت *P. drechsleri* و *Streptomyces* در آزمایش گلخانه‌ای

جمعیت عامل بیماری و آنتاگونیست در آزمایش اضافه کردن مخلوط مایهٔ استرین‌های *Streptomyces* به خاک و روش آغشته نمودن *Streptomyces* به بذر در جدول‌های ۱۲ و ۱۳ مشاهده می‌شود. میانگین جمعیت *Streptomyces* تقریباً به صورت یکنواختی در طول دوره رشد گیاه در هر دو آزمایش کاهش یافت. در هیچ یک از آزمایش‌ها موردی از افزایش جمعیت *Streptomyces* در خاک دیده نشد. جمعیت *P. drechsleri* در طول دوره رشد در هر دو آزمایش تقریباً ثابت مانده است.

بحث

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

www.SID.ir

Archive of SID

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

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

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

آغشته کردن بذر به سوسپانسیون مخلوط استرین‌های *Streptomyces* به میزان $۷/۳\times۱۰^{۶}$ cfu در هر بذر موجب افزایش گیاهان سالم به میزان ۵۰/۲۱ درصد شد و در مقایسه با روش افزودن به خاک نتایج بهتری داشت. افزایش درصد گیاهان سالم در آزمایش‌های گلخانه‌ای در مقایسه با شاهد آلوده در هر دو روش نشان داد که متابولیت‌های بازدارنده *P. drechsleri* در خاک تولید شده‌اند. تولید آنتی‌بیوتیک توسط استرین‌های *Streptomyces* در محیط فقیر آب آگار (Linggapa and Lockwood, 1961) و خاک سترون (Rothrock and Gottlieb, 1984) گزارش شده است. جمعیت عامل بیماری در طول رشد در سه نوبت اندازه‌گیری، کاهش نیافت و حتی در مرحله آخر اندازه‌گیری (۵۶ روز پس از کاشت) افزایش جزئی نشان داد. جمعیت *Streptomyces* در طول رشد در سه مرحله تقریباً به طور یکنواخت کاهش یافت. نتایج به دست آمده با نتایج بررسی جمعیت

www.SID.ir

جدول ۱۲ـ جمعیت‌های *P. drechsleri* و *Streptomyces* (cfu/g) در آزمایش اضافه کردن مخلوط مایهٔ استرین‌های *Streptomyces* به خاک

Table 12. Populations of *P. drechsleri* and *Streptomyces* in soil treatment test

تیمارها Treatments		۷ روز پس از کاشت 7 days after sowing		۴۲ روز پس از کاشت 42 days after sowing		۵۶ روز پس از کاشت 56 days after sowing	
		P. drechsleri	*Streptomyces*	*P. drechsleri*	*Streptomyces*	*P. drechsleri*	*Streptomyces*
Healthy control	شاهد غیرآلوده	—	—	—	—	—	—
Pathogen control	شاهد آلوده	$(1.66\pm1.03)\ 10^3$	—	$(1.66\pm2.88)\ 10^3$	—	$(2.66\pm2.08)\ 10^3$	—
Healthy control + bran	شاهد غیرآلوده + سبوس	—	—	—	—	—	—
Streptomyces		—	$(9.99\pm2.48)\ 10^6$	—	$(7.2\pm0.85)\ 10^5$	—	$(8.33\pm1.15)\ 10^4$
P. drechsleri + *Streptomyces*		$(1.33\pm0.57)\ 10^5$	$(5.46\pm2.65)\ 10^5$	$(2\pm2)\ 10^3$	$(4.4\pm0.45)\ 10^5$	$(2\pm1.73)\ 10^5$	$(7.66\pm1.52)\ 10^4$

Data are means of three replicates.

± Standard error

اعدادی که در متن جدول آمده‌اند میانگین سه تکرار هستند.

± انحراف معیار

جدول ۱۳ـ جمعیت‌های *P. drechsleri* و *Streptomyces* (cfu/g) در آزمایش آغشته کردن بذر به سوسپانسیون استرین‌های *Streptomyces*

Table 13. Populations of *P. drechsleri* and *Streptomyces* in seed treatment test

تیمارها Treatments		۷ روز پس از کاشت 7 days after sowing		۴۲ روز پس از کاشت 42 days after sowing		۵۶ روز پس از کاشت 56 days after sowing	
		P. drechsleri	*Streptomyces*	*P. drechsleri*	*Streptomyces*	*P. drechsleri*	*Streptomyces*
Healthy control	شاهد غیرآلوده	—	—	—	—	—	—
Pathogen control	شاهد آلوده	$(1.33\pm2.3)\ 10^2$	—	$(1.33\pm1.52)\ 10^3$	—	$(2.33\pm3.21)\ 10^3$	—
Healthy control + bran	شاهد غیرآلوده + سبوس	—	—	—	—	—	—
Streptomyces		—	$(4.6\pm0.6)\ 10^5$	—	$(8.33\pm0.57)\ 10^4$	—	$(8.33\pm0.57)\ 10^4$
P. drechsleri + *Streptomyces*		$(1\pm1.73)\ 10^3$	$(8.86\pm0.75)\ 10^5$	$(1.66\pm2.88)\ 10^3$	$(9\pm1)\ 10^4$	$(2.33\pm2.51)\ 10^3$	$(1\pm1)\ 10^4$

Data are means of three replicates.

± Standard error

اعدادی که در متن جدول آمده‌اند میانگین سه تکرار هستند.

± انحراف معیار

www.SID.ir

Archive of SID

Archive of SID

Streptomyces درمحیط‌بدون‌خاک‌برای کنترل *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp مطابقت داشت (Bolton, 1980).

مقاومت *Streptomyces* به خشکی (McBride and Ensign, 1987) و عدم تأثیر قارچ‌کش‌ها روی آن‌ها امتیازی برای این آنتاگونیست‌ها در کنترل تلفیقی است (Istifadah, 1997). با توجه به نتایج به دست آمده از آنتاگونیست‌های مؤثر در این بررسی به ویژه در کشت‌های گلخانه‌ای جالیز در منطقه امکان استفاده از این آنتاگونیست‌ها علیه بیماری‌های رایج منطقه ورامین امکان‌پذیر است. از آنجائی که این آنتاگونیست‌ها در کنترل پژمردگی فوزاریومی خربزه و طالبی در اثر *F. Oxysporum* f. sp. *melonis* (L. &. C.) Snyder and Hansen (اشرفی‌زاده، ۱۳۸۰) و ساق‌سیاه خربزه در اثر قارچ *Macrophomina phaseoli* (Etebarian, 2000) نیز مؤثر بوده‌اند می‌توانند در کنترل تلفیقی علیه این سه عامل بیماریزا مؤثر باشند. به هر حال تولید انبوه و تجاری استرین‌های فوق نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد. از سوی دیگر به نظر می‌رسد به تحقیقات بیشتری در مورد شناخت مواد آلی مناسب جهت تهیه مایهٔ استرین‌های فوق و یا مواد مناسب جهت پوشش بذر نیاز است تا بتوان بهترین نتیجه را در حفظ جمعیت جدایه‌ها در خاک و کنترل بیماری به دست آورد. مطالعه بیشتر در مورد مکانیسم تأثیر شناسائی متابولیت‌های آنتاگونیست‌ها در سطح مولکولی، شناسائی آنزیم‌ها و سایر متابولیت‌ها و بررسی امکان انتقال ژن‌های مؤثر به گیاهان میزبان می‌تواند گامی مهم به سوی کنترل بهتر بیماری باشد.

سپاسگزاری

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

منابع مورد استفاده

References

ارشاد، ج. ۱۳۷٤. قارچ‌های ایران. انتشارات سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شماره ۱۰. ۸۷٤ صفحه.

ارشاد، ج.، و مستوفی‌پور، پ. ۱۳٤۸. بوته‌میری جالیز در ایران. بیماریهای گیاهی ۵ (۲): ٤۵-۳۸.

اشرفی‌زاده، ا. ۱۳۸۰. بررسی امکان کنترل بیولوژیک قارچ *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی. ۱۸۸ صفحه.

www.SID.ir

Archive of SID

اعتباریان، ح. ر. ۱۳۸۱. بیماریهای سبزی و صیفی و روش‌های مبارزه بـا آن‌هـا. انتشـارات دانشـگاه تـهران. چاپ دوم. ٦٠٠ صفحه.

اعتباریان، ح. ر.، اسکات، آ.، و ویک، ت. ۱۳۷۹. ارزیابی جدایه‌های *Streptomyces* برای مبارزه بیولـوژیکـی علیـه پوسـیدگـی صورتـی سـیب‌زمینی و پوسـیدگـی ریشـه و طوقـه گوجـه‌فرنگی. خلاصـه مقـالات چهاردهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. دانشگاه صنعتی اصفهان. صفحه ۹٦.

بهداد، ا. ۱۳۵۹. بیماریهای گیاهان زراعی ایران. چاپ نشاط اصفهان. ٤٢٣ صفحه.

حیدری فاروقی، ش. ۱۳۸۰. بررسی امکان کنترل بیولوژی با عـامل بوتـه‌میری جـالیز. پایان‌نامـه کارشناسـی ارشد. واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی. ۲۰٦ صفحه.

علوی، ا. ۱۳۵۲. بیماری بوته‌میری جالیز. بیماریهای گیاهی ۹: ٤۹-۳۷.

Barnett, H. L., and Hunter, B. B. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. (3rd edition). Burgess Publishing Company. 241pp.

Bolton. A. T. 1978. Effects of amending soilless mixtures with soil containing antagonistic organisms on root rot and blackleg of Geranium (*Pelargonium hortorum*) caused by *Pythium splendens*. Canadian Journal of Plant Science 58: 379-383.

Bolton, A. T. 1980. Control of *Pythium aphanidermatum* in poinsettia in a soilless culture by *Trichoderma viride* and a *Streptomyces* sp. Canadian Journal of Plant Pathology 2: 93-95.

Broadbent, K. F., Baker, K. F., and Waterworth, Y. 1971. Bacteria and Actinomycetes antagonistic to fungal pathogens in Australian soils. Australian Journal of Biological Science 24: 925-944.

Cook, R. J., and Baker, K. F. 1983. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 539 pp.

Dhingra, D. O., and Sinclair, J. B. 1995. Basic Plant Pahtology Methods. Second edition. Lewis Publishers, Roca Raton, London. 435 pp.

El-Tarabily, K. A., Sykes, M. L., Kurböke, I. D., Hardy, G. E. St. J., Barbosa, A. M., and Dekker, R. F. H. 1996. Synergistic effects of a cellulase-producing *Micromonospora carbonacea* and an antibiotic-producing *Streptomyces violascens*

www.SID.ir

Archive of SID

on the suppression of *Phytophthora cinnamomi* root rot of *Banksia grandis*. Canadian Journal of Botany 74: 618-624.

Ensign, J. C. 1991. Introduction to the *Actinomycetes*. pp. 811-815. In: Balows, A., Truper, H.G., Dworking, M., Harder, W., and Schleifer, K. H. (eds.). The Prokaryotes, a handbook on the Biology of Bacteria: Ecophysiology, Isolation, Identification, Applications. 2nd ed.Volume I. Springer-Verlag, Berlin.

Etebarian, H. R., Scott, E. S., and Wicks, T. J. 2000. *Trichoderma harzianum* T39 and *T. virens* DAR 74290 as potential biological control agents for *Phytophthora erythroseptica*. European Journal of Plant Pathology 106: 329-337.

Etebarian, H. R. 2002. Evaluation of *Streptomyces* isolates for biological control of Charcoal rot of melon. Abstract, 26th International Horticultural Congress, Toronto, Canada, S08-p-41A.

Hardy, G. E. St. J., and Sivasithamparam, K. 1995. Antagonism of fungi and Actinomycetes isolated from composted eucalyptus bark to *Phytophthora drechsleri* in a steamed and non-steamed composted eucalptus bark-amended container medium. Soil Biology and Biochemistry 27: 243-246.

Hsu, S. C., and Lockwood, J. L. 1969. Mechanism of inhibition of fungi in agar by *Streptomyces*. Journal of General Microbiology 57: 149-158.

Hwang, B. k., and Kim, B. S. 1995. *In vivo* efficacy and *in-vitro* activity of Tubercidin, and antibiotic Nucleoside, for control of *Phytophthora capsici* blight in *Capsicum. annuum*. Pesticide Sciences 44: 255-260.

Istifadah, N. 1997. Antagonistic potential of Actinomycetes to control *Sclerotium rolfsii* Sacc. Msc. Thesis, Department of Crop Protection. The University of Adelaide, Adelaide, South Australia.

Jones, C. R., and Samac, D. A. 1996. Biological control of fungi causing alfalfa seedling damping-off with a disease-suppressive strain of *Streptomyces*. Biological Control 7: 196-204.

Kim, C. J., Lee, I. K., Yun, B. S., and Yoo, I. D. 1993. Concanamycin B, active substance against *Phytophthora capsici* produced by *Streptomyces neyagawensis* 38D10 Strain. Korean Journal of Applied Microbiology and Biotechnology 21, 4: 322-328.

www.SID.ir

Archive of SID

Lee, I. K., Kim, C. J., Kim, S. D., and Yoo, I. D. 1990. Antifungal antibiotic against fruit rot disease of red pepper from *Streptomyces parvullus*. Korean Journal of Applied Microbiology and Biotechnology 18 (2): 142-147.

Lingappa, B. T., and Lockwood, J. L. 1961. The nature of widespread soil fungistatis. Journal of General Microbiology 26: 473-485.

Little, T. M., and Hills, F. J. 1978. Agricultural Eexperimentation Design and Analysis. John Willey and Sons Inc. New York, U. S. A. 349pp.

Massago, H., Yoshikawa, M., Fukada, M., and Nakanishi, N. 1977. Selective inhibition of *Pythium* spp. On a medium for direct isolation of *Phytophthora* spp. from soils and plant. Phytopathology 67: 425-428.

McBride, M. J., and Ensign, J. C. 1987. Effects of intracellular trehalose content on *Streptomyces griseus* spores. Journal of Bacteriology 169: 4995-5001.

Mohammadi, O. 1994. Commercial development of Mycostop biofungicide. pp. 282-284. In; Ryder, M. H., Stephens, P. M., and Bowen, G. D. (eds.). Improving Plant Productivity with Rhizosphere Bacteria. CSIRO, Australia (Coted by Istifadeh, 1997).

Munnecke, D. E. 1984. Establishment of micro-organism, in fumigated avocado soil attempt to prevent re-invasion of the soils by *Pytophthora cinnamomi*. Transactions of the British Mycological Society 83: 287-294.

Na Lampang, A. 1994. Study on interaction between *Sclerotium rolfsii* Sacc. and selected antagonists. Ph. D. Thesis, The University of Adelaide, Adelaide, South Australia.

Namec, S., Datnoff, L. E., and Strandberg, J. 1996. Efficacy of biocontrol agents in planting mixes to colonize plant roots and control root diseases of vegetables and citrus. Crop Protection 15: 735-742.

Rothrock, C., and Gottlied, D. 1981. Importance of antibiotic production in antagonism of selected *Streptomyces* species to two soil-borne plant pathogens. The Journal of Antibiotics 34: 830-835.

Rothrock, C., and Gottlieb, D. 1984. Role of antibiosis in antagonism of *Streptomyces hygroscopicus* var. *geldanus* to *Rhizoctonia solani* in soil. Candian Journal of Microbiology 30: 1440-1447.

www.SID.ir

Archive of SID

Sivasithamparam, K., Parker, C. A., and Edwards, C. S. 1979. Rhizosphere microorganisms of seminal and root nodal of wheat grown in pots. Soil Biology and Biochemistry 11: 155-160.

Williams, S. T., Shaeemullah, M., Watson, E. T., and Mayfield, C. I. 1972. Studies on the ecology of *Actinomycetes* in soil. IV. The influence of moisture tension on growth and survival. Soil Biology and Biochemistry 4: 215-225.

Yuan, W. M., and Crawford, D. L. 1995. Characterisation of *Streptomyces lydicus* WYEC108 as a potential biocontrol against fungal root and seed rots. Applied and Environmental Microbiology 61: 3119-3128.

آدرس نگارندگان:

شبنم حیدری‌فاروقی و حمیدرضا زمانی‌زاده- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران.

حسن‌رضا اعتباریان- گروه گیاهپزشکی، مجتمع آموزش عالی ابوریحان، صندوق پستی ۱۳۶۵-٤۱۱۷، تهران.

www.SID.ir