جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
جلد سیزدهم، شماره پنجم، آذر – دی ۱۳۸۵
www.magiran.com/jasnr

کاربرد باکتری‌های آنتاگونیست جهت کنترل بلایت فوزاریومی خوشه گندم ناشی از *Fusarium graminearum*، بر ارقام حساس و نیمه مقاوم در شرایط گلخانه و مزرعه

*مهسا علیمی[۱]، محمدجواد سلیمانی[۱]، حشمت ا... رحیمیان[۲] و علیرضا مهاجر[۳]
[۱]گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان؛ [۲]گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مازندران، ساری؛
[۳]مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی، اوین، تهران

تاریخ دریافت: ۸۵/۱/۲۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۵/٤/٦

چکیده

در این تحقیق امکان کنترل بیولوژیک قارچ *Fusarium graminearum* (Schwabe) عامل بلایت سنبله با تعدادی از باکتری‌های آنتاگونیست مورد ارزیابی قرار گرفت. طی بازدیدهای انجام شده از مزارع گندم منطقه گرگان و دشت در بهار ۱۳۸۳ نمونه‌هایی از سنبله گیاهان فاقد علائم بلایت فوزاریومی سنبله جمع‌آوری و تعداد ۲۱۰ استرین باکتری خالص سازی گردید.جدایه های قارچ عامل بیماری نیز از خوشه‌های آلوده جداسازی شد. از این تعداد باکتری، بر اساس آزمون کشت متقابل شش جدایه باکتری به‌صورت منفرد و دو مورد مخلوط جدایه‌ها که بیشترین قدرت بازدارندگی را داشتند جهت بررسی نهایی در آزمایش‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای انتخاب شدند. در آزمون‌های آزمایشگاهی تمامی جدایه‌ها، از نظر تولید سلولاز، پروتئاز و نیز تولید مواد فرار و متابولیت‌های مایع خارج سلولی مورد بررسی قرار گرفته و بازداری آن‌ها از رشد میسلیومی قارچ بیمارگر بررسی شد. براساس خصوصیات بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی استرین‌های باکتریایی که شناسایی شدند به ترتیب شامل: استرین‌های شماره ۳۵ و ۵۰ *B. cereus, Bacillus subtilis,* و استرین‌های شماره ۳۲، ۱۷٤، ۱۷۵، *Pseudomonas fluorescenc* و استرین شماره ٦٤، *Erwinia herbicola* بودند. در بررسی‌های صورت گرفته نتایج حاصل از این تحقیق در شرایط گلخانه و آزمایشگاه حاکی از آن است که تمامی استرین‌ها از نظر شدت بیماری، وقوع بیماری و وزن هزار دانه تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد داشتند، و باعث کاهش شدت بیماری و وقوع بیماری گردیده و نیز سبب افزایش وزن هزار دانه شدند. در حالی که مخلوط استرین‌های آنتاگونیست باکتریایی در شرایط آزمایشگاه و هم چنین گلخانه و مزرعه نتیجه بهتری از استرین‌های منفرد نشان دادند. با توجه به این که این بررسی بر روی ارقام حساس (فلات) و نیمه مقاوم (شانگ‌های) انجام شد تفاوت در موارد بررسی شده بین تیمارهای باکتریایی و شاهد در رقم فلات بیشتر از رقم شانگ‌های می‌باشد. با ذکر این نکته که در رقم نیمه مقاوم با کاربرد باکتری‌های آنتاگونیست دسترسی به گیاه سالم و عاری از بیماری میسر نگردید. با توجه به این که این تحقیق علاوه بر شرایط آزمایشگاه و گلخانه در شرایط مزرعه‌ای نیز تکرار شده است و نتایج حاصل از آزمون مزرعه، نتایج آزمایش‌های گلخانه را تایید می‌کند، بنابراین امکان کاربرد کنترل بیولوژیک به‌ویژه با استفاده از مخلوط استرین‌های باکتریایی قابل توصیه به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: کنترل بیولوژیک؛ *Fusarium graminearum; Pseudomonas fluorescens ;Bacillus subtilis; B. cereus; Erwinia herbicola*

*- مسئول مکاتبه: mahsa_a5@yahoo.com

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

بیماری فوزاریومی سنبله از بیماری‌های مهم غلات دانه ریز خصوصاً گندم در مناطق استوایی و نیمه استوایی می‌باشد این بیماری به اسامی گوناگون از قبیل اسکب، سفید شدن خوشه گندم و یا فوزاریوز خوشه گندم نامیده می‌شود (ساتون، ۱۹۹۵).

در ایران بلایت سنبله در سال ۱۳٦۲ از مازندران گزارش گردید اما در آن سال‌ها اهمیت اقتصادی چندانی نداشت (بامدادیان وترابی ،۱۳٦۲). گلزار (۱۳۷۲) گزارش نمود که فوزاریوز سنبله به عنوان یکی از بیماری‌های مهم در شرق مازندران بوده و اپیدمی آن طی سال زراعی ۷۱-۷۰ خسارت قابل توجهی به محصول گندم وارد نموده است که به‌طور کلی می‌توان گفت بیماری بلایت فوزاریومی سنبله در ایران از سال ۱۳٦۵ به بعد با معرفی و گسترش ارقام پرمحصول اما حساس فلات و گلستان به بیماری به‌صورت فراگیر در آمد.خسارات بیماری در برخی از مزارع استان مازندران تا ۸۰ درصد برآورد شده است (فروتن و همکاران، ۱۳۷۲). علاوه بر این قارچ عامل بیماری فوزاریوز خوشه گندم (*F. graminearum*) تولید مایکوتوکسین‌هایی به نام داکسی‌نیوالنون و زرالنون را نموده که در سال‌های اخیر در ایران و دنیا نیز به جهت اهمیت تولید گندم نان مورد توجه قرار گرفته است (صفایی و همکاران، ۱۳۸۳).

F. graminearum قبلاً دو جمعیت تحت عنوان گروه I و II را شامل می‌شد اما با توجه به نتایج حاصل از پژوهش‌های آوکی و اودونل (۱۹۹۵)، گروه I تحت عنوان گونه جدید *Fusarium pseudograminearum* توصیف شده است و گروه II گونه *F. graminearum* که عامل بلایت فوزاریومی سنبله گندم می‌باشد.

اگر چه کنترل بیولوژیکی بیماری فوزاریوز سنبله گندم به صورت تجارتی مرسوم نشده اما امکان‌پذیر بودن این عمل ثابت شده (استوک ول، ۱۹۸۷) و گزارش‌هایی از کنترل بیماری مذکور توسط میکروارگانیسم‌های آنتاگونیست درمزرعه وجود دارد (لازارتی، ۱۹۸۷). هوانگ و ونگ (۱۹۹۸) نشان دادند که استرین A3R باکتری *Burkholderia cepacia* (مقاوم به آنتی بیوتیک Rifampicin) به‌طور معنی‌داری علائم ناشی از بیماری پوسیدگی طوقه گندم (ناشی از *Fusarium graminearum* group I) را در آزمایش‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای کاهش داد. بررسی صورت گرفته توسط الملیجی و حسن (۲۰۰۱) نشان داد که استفاده از گونه جدیدی از باسیلوس با نام *B. polymyxa*، علاوه بر کاهش شدت و درصد وقوع گیاهچه آلوده به *F. graminearum*افزایش ۱۰۲ درصدی نیز در عملکرد گندم را سبب شده است. همچنین دو گونه تریکودرما نیز در این بررسی مورد استفاده قرار گرفته که سبب افزایش ٦۲ درصد در عملکرد گندم گردیدند. در ایران نیز بررسی‌های انجام شده توسط محمدزاده و همکاران (۱۳۸٤) در رابطه با مبارزه بیولوژیک با گونه *Trichoderma koningii* بر علیه گونه‌های فوزاریوز خوشه گندم مانند: *F. graminearum* و *F. culmorum* در شرایط آزمایشگاه نشان داد که *T. koningii* با رشد بیشتر از دو گونه فوزاریوم ممانعت از رشد آن‌ها می‌نماید.

به منظور استفاده از میکروارگانیسم‌ها در کنترل فوزاریوز سنبله گندم آزمایش دیگری توسط فومینگ و شیمینگ (۱۹۹۵) صورت گرفت. ۱۳۹ آنتاگونیست شامل ۱۱۸ باکتری آنتاگونیست، پنج اکتینومیست، سه مخمر و ۱۳ باکتری که در تغذیه با عامل بیماری رقابت می‌کردند، جداسازی گردیدند. سپس این میکروارگانیسم‌ها بر روی خوشه‌های بریده شده ودر گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج این بررسی نشان داد که دو باکتری آنتاگونیست به همراه یک باکتری دیگر سبب کنترل عامل بیماری به ترتیب میزان ۹۱/۸، ۷۵/۳ و ۹۸/۹ درصد در گلخانه گردیدند.

در این تحقیق ضمن بررسی میزان خسارت گونه *F. graminearum* بر فاکتورهای رشدی گندم، شدت بیماری‌زایی این قارچ در شرایط گلخانه و مزرعه بر روی ارقام حساس و نیمه مقاوم آزمایش شد به‌علاوه شناسایی تعدادی باکتری‌های آنتاگونیست ناحیه فیلوسفر گندم در منطقه گرگان با استفاده از آزمون‌های معمول بیوشیمیایی انجام شد، بررسی مکانیسم عمل این جدایه‌ها از دیگر اهداف این تحقیق منظور گردید. در نهایت میزان تأثیر این باکتری‌ها بر افزایش رشد و عملکرد گندم و کاهش

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

خسارت بیماری بلایت فوزاریومی خوشه گندم ناشی از قارچ مذکور در شرایط گلخانه و مزرعه مورد بررسی قرار گرفت. همچنین تاثیر کاربرد استرین‌های تک جدایه و مخلوط آنتاگونیست‌ها بر روی ارقام نیمه مقاوم و حساس مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری، جداسازی و خالص‌سازی قارچ عامل بیماری: جهت جداسازی قارچ بیمارگر، در طی نمونه‌برداری‌هایی که از مزارع گرگان و دشت در سال ۱۳۸۳به عمل آمد، نمونه‌های با علائم کپک‌های صورتی و سفید شدگی خوشه انتخاب و به آزمایشگاه انتقال داده شدند. گونه *F. graminearum* به‌روش تک اسپور[1] خالص سازی شد و روی محیط PDA (سیب زمینی- دکستروز- آگار) در داخل لوله در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تشخیص گونه مورد نظر با استفاده از کلیدهای معتبر موجود (نلسون، ۱۹۸۳؛ بورگس، ۱۹۹٤) انجام گرفت.

غربال استرین‌های باکتریایی آنتاگونیست در شرایط آزمایشگاه: جهت بررسی توان آنتاگونیستی استرین‌های باکتریایی و غربال آنها جهت بررسی‌های بعدی در آزمایشگاه و گلخانه و تعیین قدرت بازدارندگی آن‌ها، از کشت جوان ۲۱۰ جدایهٔ باکتریایی به صورت چهارتایی، چهار استرین مختلف در فاصله ۰/۵ سانتی‌متری لبه ظروف پتری حاوی محیط کشت PDA به صورت نقطه ای مایه‌زنی شده و به طور همزمان یک بلوک ۵ میلی‌متری از کشت ۵ روزه بیمارگر نیز در وسط ظرف پتری مایه‌زنی شد. تشتک‌ها به مدت ۱۰روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند؛ این آزمون در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. پس از این مدت استرین‌هایی که در تقابل با بیمارگر، هاله بازدارندگی ایجاد کرده بودند برای مرحله بعد جهت گزینش نهایی انتخاب شدند (هاگدرون، ۱۹۸۹)، پس از آزمون کشت متقابل و شناسایی باکتری‌های مذکور جدایه‌های مخلوط و جدایه‌های تک جدایه مناسب جهت بررسی‌های بعدی در آزمایش‌های گلخانه و مزرعه انتخاب شدند.

شناسایی باکتری‌های آنتاگونیست: آزمون‌های افتراقی شامل آزمون احیاء نیترات، تست فوق حساسیت، تست کتوگلوکوزید، تولید اندول، تولید لوان (Levan)، تولید رنگدانه زرد بر روی محیط YDC، تولید گاز H_2S از سیستئین، هیدرولیز کازئین، هیدرولیز نشاسته، هیدرولیز ژلاتین، تولید اسید از کربوهیدراتها و مصرف کربوهیدراتها و سایر منابع کربن (محیط آیر و همکاران)، تست رشد بی‌هوازی یا تست نیاز به اکسیژن (o/f test)، آزمون لسیتیناز، آزمون رشد در ٤۵ درجه سانتی‌گراد، آزمون رشد در مقادیر مختلف نمک، آزمون استفاده از سیترات، آزمون رشد غیر هوازی در محیط مایع گلوکز و نیز آزمون‌های مرفولوژیک و فیزیولوژیک اختصاصی جهت شناسایی استرین‌های باکتری‌های انتخاب شده صورت گرفت (شاد، ۲۰۰۱).

بررسی تولید متابولیت‌های میکروبی مؤثر در خاصیت آنتاگونیستی: جهت بررسی توان آنتاگونیستی باکتری‌ها در شرایط آزمایشگاهی آزمون‌های زیر انجام شد: آزمون تولید پروتئاز، آزمون تولید سلولاز، آزمون تولید ترکیبات بازدارنده خارج سلولی قابل پخش، آزمون تولید ترکیبات فرار ضد قارچی، آزمون تولید سیدروفور، آزمون تاثیر متابولیت‌های مایع خارج سلولی با روش سترون سازی اتوکلاو شده و بررسی اثرات بازدارندگی استرین‌های آنتاگونیست در مقیاس میکروسکوپی انجام شد.

تهیهٔ مایهٔ تلقیح استرین‌های باکتریایی آنتاگونیست: مایه تلقیح استرین‌های باکتریایی به روش کیم و همکاران (۱۹۹۷) تهیه شد. برای این کار ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون کشت ٢٤ ساعته استرین‌ها، روی محیط NBY ۸ گرم نوترینت بروث، ۲ گرم عصاره مخمر، ۲/۵ گرم گلوکز، ۲ گرم پتاسیم هیدروژن فسفات، ۰/۵ گرم پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات، ۲۰ گرم آگار برای یک لیتر؛ پس از اتوکلاو نیز ۱ میلی‌لیتر محلول سترون $MgSO_4, 7H_2O$ یک مولار به آن اضافه شد، به کمک پیپت پاستور پخش گردید و به مدت ٤۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۰۲ مولار با اسیدیته ۷ به هر ظرف پتری اضافه شد و

1- Single Spore

باکتری‌ها به صورت سوسپانسیون در آورده شد. از این سوسپانسیون سری‌های رقت تهیه شد. تعیین جمعیت باکتری‌های موجود در سوسپانسیون اصلی با شمارش تعداد باکتری‌های موجود در سری‌های رقت با روش شمارش پرگنه‌های حاصل از کشت سری‌های رقت روی محیط آگار غذایی صورت گرفت.

تهیه اینوکلوم قارچ عامل بیماری: جهت تولید اینوکولوم از روش وگنر (۱۹۹۲) استفاده گردید. در این روش درون ارلن‌های ۲۵۰ میلی لیتری مقداری ۲/۵ گرم کاه جو به‌علاوه ۲/۵ گرم کاه گندم آسیاب شده ریخته شد. سپس به ارلن‌ها ۱۲۵ سی‌سی آب مقطر افزوده و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد وفشار اتمسفر ۱/۵ به مدت ۳۰ دقیقه اتوکلاو گردیدند. پس از سرد شدن ارلن‌ها ۱۲۵ سی‌سی آب مقطر افزوده و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار اتمسفر ۱/۵ به مدت ۳۰ دقیقه اتوکلاو گردیدند. عمل سترون کردن ۲٤ ساعت بعد مجدداً تکرار گردید. پس از سرد شدن ارلن‌ها به کمک لوپ قارچ‌شناسی از حاشیه محیط کشت‌های ۵ـــ۳ روزه قارچ *F. graminearum* برروی محیط PDA قطعه کوچکی به قطر حدوداً ۵ mm برداشته و داخل ارلن ریخته شد. سپس ارلن‌ها بر روی شیکر دورانی ۱۲۰ دور در دقیقه در دمای آزمایشگاه (۲۵ـ۲۰ درجه سانتی گراد) قرار داده شدند. بعد از گذشت چهار روز اسپورهای فراوانی از قارچ عامل بیماری بدست آمد.

مایه‌زنی باکتری‌های آنتاگونیست و قارچ عامل بیماری بر روی گندم در شرایط گلخانه: سوسپانسیون هر یک از استرین‌ها آنتاگونیست پس از تهیه در دو مرحله غلاف وگلدهی بر روی سنبله‌های رقم فلات با غلظت $۲×۱۰^{۵}$ اسپور در هر میلی‌لیتر اسپری شدند. همچنین با شروع مرحله گلدهی سنبله‌ها در طی یک هفته ۵ بار سوسپانسیون مخلوط جدایه‌های عامل بیماری با غلظت $۲×۱۰^{۵}$ مایه‌زنی گردیدند. سنبله‌ها قبل از مایه‌زنی آب پاشی گردید و به منظور تأمین رطوبت نسبی هوا جهت قارچ بعد از پاشش عامل بیماری سنبله‌ها توسط مه پاش(Mistfire) ۸-۵ بار کاملاً خیس شده و با کیسه‌های پلاستیکی پوشانده شدند. پس از ۷۲ ساعت کیسه‌های پلاستیکی از روی سنبله‌ها برداشته شد و به منظور تأمین رطوبت، گلدان‌ها به زیر پوشش پلاستیکی منتقل گردید. رطوبت نسبی در زیر این پوشش ۸۰-۷۰ درصد بود و دمای گلخانه ۲۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد.

بررسی تأثیر قارچ و باکتری‌های آنتاگونیست بر میزان شدت، وقوع بیماری و رشد و عملکرد گندم در شرایط گلخانه: آزمون‌های گلخانه‌ای به صورت آزمایش فاکتوریل دو عاملی (عامل اول استرین‌های باکتریایی و عامل دوم (رقم) در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار به انجام رسید. داده‌برداری‌ها پس از ظهور اولین علائم بیماری انجام شد و گروه‌بندی تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح یک درصد انجام گرفت. پس از ظهور اولین علائم، وضعیت بیماری بر روی سنبله‌ها بر حسب شدت بیماری یادداشت‌برداری شد در یادداشت برداری نسبت سنبلچه‌های آلوده به کل سنبله جهت محاسبه شدت بیماری و نسبت خوشه‌های سالم به خوشه‌های آلوده جهت محاسبه مبزان وقوع بیماری در نظر گرفته شد. ۲۱ روز بعد از اولین مایه‌زنی عامل بیماری شدت بیماری به همراه وزن صد دانه سنبله‌ها محاسبه گردید. میزان شدت بیماری از طریق تقسیم تعداد سنبلچه‌های آلوده بر تعداد کل سنبلچه‌های هر سنبله محاسبه گردید. استاندارد مورد استفاده برای ارزیابی شدت بیماری بر اساس ایندکس "Horsfall-Barret" scale مطابق جدول ۱ صورت گرفت (مک موللن، ۱۹۹۸).

جدول ۱- شاخص اندازه‌گیری شدت بیماری گیاهچه‌های گندم آلوده به قارچ *F. graminearum*.

سطوح شدت بیماری	درصد آلودگی در هر سنبله بر اساس ایندکس	نمره
سالم	۰-٪۷	۱
آلودگی بی اهمیت	٪۱٤-٪۲۱	۲
آلودگی ملایم	٪۳۳-٪۵۰	۳
آلودگی سخت	٪۵۰-٪٦٦	٤
آلودگی خیلی شدید	٪۷۰-٪۹۰	۵
آلودگی کامل	٪۱۰۰	٦

آزمایش‌های مزرعه‌ای: آزمایش‌های مزرعه‌ای این پژوهش در ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان (عراقی محله) انجام گرفت؛ لازم به ذکر است که نمونه‌برداری‌های اولیه نیز از همین منطقه صورت گرفته بود. جهت انجام آزمایش‌های مزرعه‌ای کرت‌هایی به طول ٤ متر و عرض ۱/۵ متر در نظر گرفته شد. با استفاده از ارقام فلات (حساس) و شانگهای (نیمه مقاوم) در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار انجام شد. هر رقم به صورت دو لاین کنار هم در چهار خط کاشته شد در حالی که فاصله خطوط از هم ۷۵ سانتی‌متر بود و خطوط بر روی پشته‌ها قرار داشتند. تاریخ کاشت این ارقام بیست آذر ماه بود. آبیاری مزرعه به صورت غرقابی در فواصل زمانی ۱۲-۱۰ روز انجام گرفت که به دلیل شرایط جوی منطقه و بارش‌های بسیار این فواصل زمانی بیشتر می‌شد. و از فروردین به بعد نیز با نصب و راه‌اندازی سیستم میست آزمایش‌های زیر سیستم میست انجام شد. در فروردین ۱۳۸٤ و در مرحله سنبله‌دهی و شیری تا خمیری شدن دانه‌ها جهت پاشش سوسپانسیون باکتری انتخاب گردید ابتدا سه نوبت تیمار سوسپانسیون پاشی باکتری با فواصل زمانی یک روز و سپس هم‌زمان با شروع دورهٔ گل‌دهی اسپور پاشی اسپور قارچ عامل بیماری در پنج مرحله و با فواصل زمانی ۷-۵ روز انجام گرفت. غلظت اسپور موجود در اینوکلوم قارچ[۳] ۱۰×۷-۵ اسپور در میلی‌لیتر بود.در تیمار شاهد تنها اسپور پاشی قارچ بدون تیمار سوسپانسیون پاشی باکتری بر روی دو رقم فلات (کاملاً حساس) و شانگهای (نیمه مقاوم) انجام شد. در سنبله‌های شاهد از آب مقطر سترون به جای سوسپانسیون باکتری استفاده شد.

بررسی روند پیشرفت بیماری در سنبله‌ها بر اساس ایندکس شدت بیماری محاسبه گردید و برداشت گندم نیز در اواخر خرداد ماه ۱۳۸٤ به صورت دستی انجام گرفت و خوشه‌ها جهت شمارش وزن ۱۰۰۰ دانه سنبله‌ها با خرمن‌کوب کوبیده شد و با دستگاه شمارش‌گر دانه[۱] وزن ۱۰۰۰ دانه محاسبه گردید.

محاسبات آماری: ابتدا داده‌های به دست آمده از آزمایش‌های مختلف از طریق نرم افزار Excel software package (۲۰۰۰) وارد کامپیوتر گردید. به منظور تجزیه وتحلیل آماری اعداد برای پارامترهای مورد مطالعه از لحاظ نرمال بودن ومنحنی توزیع یکنواختی واریانس از نرم‌افزار SAS استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱ درصد استفاده شد. در تمامی آزمون‌ها (در شرایط آزمایشگاه، گلخانه و مزرعه) برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده، با توجه به وجود عدد صفر در میان داده‌ها و همچنین نرمال کردن داده‌ها، از تبدیل جذری $\sqrt{x+0.5}$ استفاده گردید. مقایسهٔ میانگین داده‌ها با استفاده از نرم افزارSAS انجام شد (یزدی صمدی ، ۱۳۷٦؛ لیتل و هیل، ۱۹۷۸)

نتایج

براساس آزمون‌های بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی شاد و همکاران، (۲۰۰۱)، مشخصات جدایه ۵۰ با *Bacillus cereus*، جدایه ۳۵ با *Bacillus subtilis*، مشخصات جدایهٔ ۲۳ با *Pseudomonas fluorescens* bv. I، جدایه ۱۷٤ با *P. fluorescens*

1- Seed Counter

bv. IV، جدایه ۱۷۵ با *P. fluorescens* bv.V و مشجصات جدایه ٦٤ با*Erwinia herbicola* مطابقت داشت.

تأثیر ترکیبات فرار ضدقارچی جدایه‌ها در جلوگیری از رشد میسلیوم قارچ‌ها در محیط PDA و NGA: در بررسی میزان تأثیر ترکیبات فرار ضد قارچی تولید شده توسط جدایه‌های باکتریایی در برابر قارچ *F. graminearum* جدایه‌ها تفاوت معنی داری را (P<0.01) با شاهد از خود نشان دادند در حالی که جدایه‌های مخلوط بیشترین اثر بازداری را داشته و بین دو مورد جدایه‌های مخلوط ایزوله‌های هم جنس اثر بیشتری را در مقابل جدایه‌های مخلوط با جنس‌های متفاوت داشتند. در بین جدایه‌های تکی گونه‌های *Bacillus* و از بین بایوارهای سودوموناس فلورسنس بایوار ۱ از نظر تولید ترکیبات فرار ضد قارچی و میزان بازدارندگی مؤثرترین بودند و جدایه‌های *P. fluorescens* bv V، *Erwinia herbicola* و شاهد به ترتیب درصد بازدارندگی کمتری داشتند.

تأثیر تولید آنتی‌بیوتیک جدایه‌ها در جلوگیری از رشد میسلیوم قارچ‌ها: در این آزمون نیز همانند آزمون ترکیبات فرار ضد قارچی تفاوت تیمارها (P<۰/۱) معنی‌دار بود و جدایه‌های مخلوط اثر بیشتری را نشان دادند اما در این آزمایش برروی محیط PDA، *P. fluorescens* bv I میزان اثر آن از نظر تولید آنتی‌بیوتیک و تأثیر آن بر رشد پرگنه قارچی همانند مخلوط ایزوله‌های هم جنس بود. در این آزمون *P. fluorescens* bv I از مخلوط جدایه‌های با جنس مخالف اثر بیشتری را نشان داد.

تولید پروتئاز: در بررسی تولید این آنزیم پس از ٤٨ ساعت، هر سه بایووار یک، چهار و پنج *P. fluorescens* و گونه‌های *B. subtilis*، *B. cereus* و نیز گونه *Erwinia herbicola* با توجه به تشکیل هالهٔ روشن قادر به تولید آنزیم پروتئاز بودند، اما در این آزمایش بیشترین میزان تولید پروتئاز مربوط به کاربرد جدایه‌های مخلوط هم جنس بود در حالی که در مورد جدایه‌های مخلوط با جنس‌های مختلف میزان تولید این آنزیم کاهش پیدا کرد و بایوارهای سودوموناس نیز به میزان بیشتری نسبت به هر دو گونه باسیلوس این آنزیم را ترشح کرده بودند.

تولید سلولاز: بایوارهای *P. fluorescens* bv I, IV به میزان بیشتر در میان استرین،های مورد بررسی با تولید سلولاز اثر بازداری بر روی رشد پرگنه قارچ داشتند. در مرتبه دوم بایووار *P. fluorescens* bv. V و *Bacillus subtilis*، در مقایسه با شاهد قادر به تولید بیشتر این آنزیم بودند. باقی جدایه‌ها نیز قادر به تولید این آنزیم نبودند و در این آزمایش جدایه‌های مخلوط اثر متفاوت و معنی‌داری را نشان ندادند و از این نظر با نتایج سایر آزمون‌ها تفاوت داشت.

تأثیر متابولیت‌های مایع خارج سلولی اتوکلاو شده استرین‌های باکتریایی بر روی قارچ بیمارگر: با افزایش غلظت متابولیت‌ها، درصد بازداری از رشد میسلیومی بیمارگر توسط تمامی استرین‌های باکتریایی افزایش می‌یابد. مخلوط استرین‌های سودوموناس فلورسنت بایووار چهار و پنج و سپس سودوموناس فلورسنت بایووار چهارو *Erwinia herbicola* به ترتیب در غلظت‌های ۲۵٪ با ٤٨/٨٨ و ٤٥/٤٣ درصد، در غلظت ۱۵٪ به ترتیب با ٤٣/٧ و ٤٠/٩٩ درصد و در غلظت ٥ درصد به ترتیب با ٤١/٥٥ و ٤٠/١ درصد در تمام سطوح غلظت متابولیت‌ها سترون شده دارای بازدارندگی بودند. استرین‌های سودوموناس فلورسنت بایووار چهار و *Bacillus subtilis* نیز در تمام سطوح غلظت متابولیت‌ها سترون شده از لحاظ درصد بازدارندگی در مرتبه بعد قرار گرفتند. بیشترین تأثیر این دو استرین در غلظت ۲۵٪ به ترتیب با ٤٤/٦٧ و ٣٣/٣٥درصد بازدارندگی بود استرین ٦٤ از لحاظ کاهش رشد میسلیومی بیمارگر با متوسط بازدارندگی ۱۸/٥۱ در غلظت ۲۵ در صد و ١٤/٤٢ درصد در غلظت پنج درصد، به عنوان ضعیف‌ترین استرین در نظر گرفته شدند (شکل ۱).

تأثیر استرین‌های باکتریایی آنتاگونیست بر شدت بیماری در شرایط گلخانه و مزرعه: در شرایط گلخانه مخلوط استرین‌های باکتریایی میزان شدت بیماری را در رقم متحمل شانگ‌های ۱۰ درصد کاهش داد و سایر ایزوله‌ها تفاوت معنی داری نسبت به شاهد در کاهش میزان شدت بیماری نداشتند هم چنین هیچ کدام از جدایه‌ها حتی

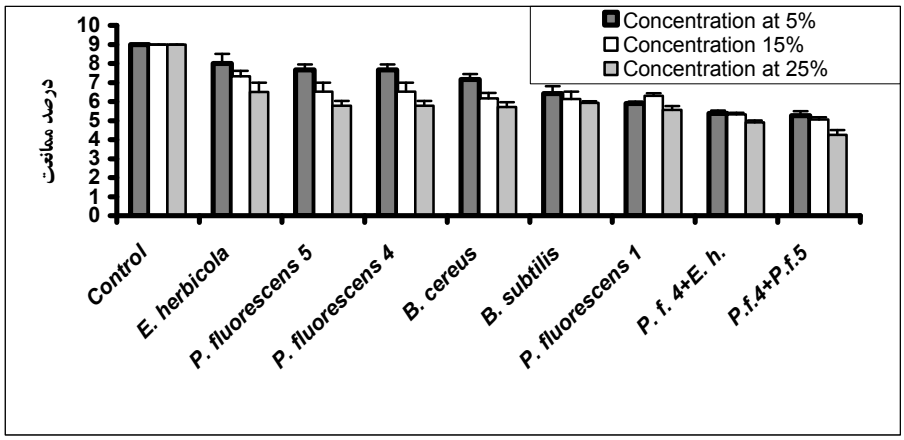
مخلوط آن‌ها قادر به کاهش میزان شدت بیماری در حد صفر و در نهایت دستیابی به بوته کاملاً مصون از بیماری نشدند. در رقم حساس فلات تفاوت بین تیمارهای باکتری و شاهد بیشتر بوده و اختلاف بیشتری بین تیمارها و شاهد دیده شد (به طوری که تفاوت بین میزان شدت بیماری در شاهد که ۱۰۰٪ بود) و میزان شدت بیماری در تیمار مخلوط باکتری‌ها ۲۰٪ بود. در تیمار مخلوط باکتری‌ها با جنس‌های متفاوت شدت بیماری ٤٥٪ بوده و هر دو گونه *B. cereus*، *B. subtilis* و بایووارهای *P. fluorescens* bv I, IV به میزان ٤٠٪ شدت بیماری را کاهش دادند و آن را به رقم ٦٠٪ رسانیدند. در حالیکه استرین های *P. fluorescens* bv V و گونه *Erwinia herbicola* در میزان شدت بیماری تأثیر چندانی نداشتند و شدت بیماری گیاه با وجود این دو تیمار حدود ۹۰٪ بود (شکل ۲).

در شرایط مزرعه در بررسی تأثیر استرین‌های آنتاگونیست باکتریایی بر میزان شدت بیماری نتایج در زمینه کاربرد مخلوط باکتری‌ها نتایج حاصل از آزمایشات گلخانه‌ای را تأئید می‌کند و تفاوت در ترتیب بازدارندگی ایزوله‌های تک جدایه است. در مورد مخلوط باکتری‌های هم جنس در رقم نیمه مقاوم شانگهای میزان بیماری تقریباً به صفر می‌رسد و در ایزوله‌های با جنس متفاوت شدت بیماری زیر ۲۰٪ بوده و همچنان گونه *Erwinia herbicola* و *B. cereus* کمترین تأثیر را بر کاهش شدت بیماری داشته است (شکل ٥).

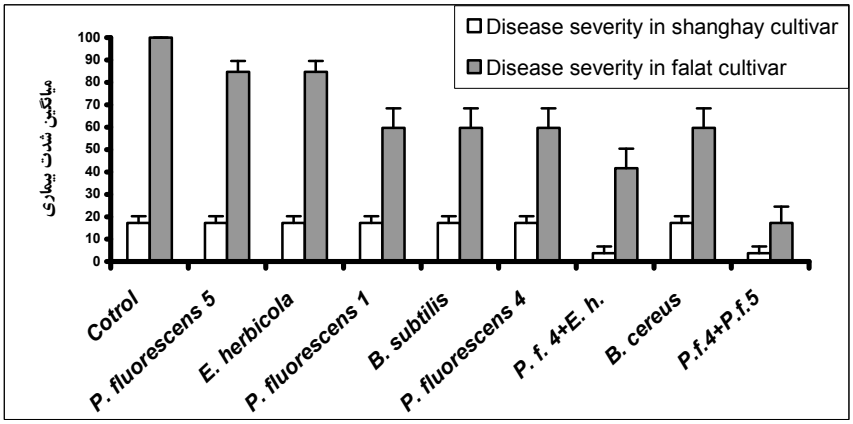
تأثیر استرین‌های باکتریایی آنتاگونیست بر میزان وقوع بیماری در شرایط گلخانه و مزرعه: از نظر اثر تیمارها بر روی میزان وقوع بیماری مخلوط هم جنس استرین‌های آنتاگونیست و مخلوط با جنس‌های متفاوت از لحاظ کاهش میزان وقوع بیماری در رتبه نخست قرار گرفتند. در بین استرین‌های منفرد نیز همانند نتایج آزمایش شدت بیماری در گلخانه *P. fluorescens* bv I و گونه *Bacillus cereus* هم در رقم شانگهای و هم در رقم فلات بیشترین میزان تأثیر را در بین جدایه‌های تکی داشتند وبایووار *P. fluorescens* bv I, V و گونه *Erwinia herbicola* و *B. subtilis* کمترین تأثیر را بر کاهش میزان وقوع بیماری داشتند (شکل ۳).

در شرایط مزرعه همانند نتایج حاصل از بررسی میزان شدت بیماری، درمورد مخلوط ایزوله‌ها نتایج آزمایش‌های گلخانه‌ای تائید شد. مخلوط هم جنس استرین‌های آنتاگونیست و مخلوط استرین‌ها با جنس‌های متفاوت از لحاظ کاهش وقوع بیماری همانند بررسی‌های گلخانه در رتبه نخست قرار گرفتند به طوری که میزان وقوع بیماری در رقم فلات در شاهد ۱۰۰ درصد و در مخلوط استرین‌های هم جنس به ٦٠ در صد رسیده بود و کاهش ٤٠ درصدی مشاهده شده است. کاهش میزان وقوع بیماری در رقم شانگهای از ٥٠ به ۲۰ درصد در اثر کاربرد مخلوط استرین های هم جنس مشاهده گردید (شکل ٦).

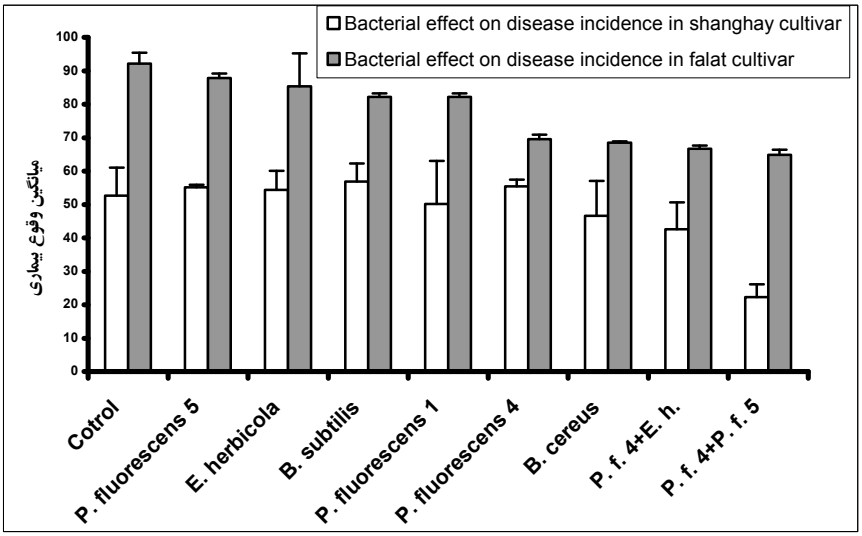
تأثیر استرین‌های باکتریایی آنتاگونیست بر روی وزن هزار دانه در شرایط گلخانه و مزرعه: در آزمایش‌های انجام شده در شرایط گلخانه در رقم شانگ‌های کاربرد مخلوط باکتری‌های هم جنس ونیز مخلوط استرین ها با جنس‌های متفاوت بیشترین تأثیر را بر افزایش وزن هزار دانه داشت. در عین حال مخلوط هم جنس باکتری‌ها هم‌چنان اثر بهتری را نسبت به مخلوط ایزوله‌ها با جنس‌های متفاوت نشان دادند. در عین حال درروی رقم فلات گونه *B. subtilis* تأثیر بیشتری را نسبت به کاربرد هر دو نوع مخلوط ایزوله‌ها نشان داد و پس از آن مخلوط باکتری‌های هم جنس قرار داشتند. در مورد این رقم مخلوط باکتری‌ها با جنس‌های مختلف در مرتبه‌ای بعد از *P. fluorescens* bv ٥ قرارگرفت (شکل ٤). در بررسی وزن ۱۰۰۰ دانه در شرایط مزرعه در رقم شانگ‌های مخلوط هم جنس و مخلوط با جنس‌های متفاوت بیشترین میزان تأثیر را بر وزن ۱۰۰۰ دانه داشتند و سپس دو گونه *B. cereus*، *B. subtilis* و *P. fluorescens* bv I بودند که هر سه از نظر آماری در یک گروه تیماری قرار گرفتند. در رقم فلات مخلوط استرین‌های هم جنس و جنس‌های متفاوت باکتری‌ها به همراه *P. fluorescens* bv I با هم در یک گروه تیماری قرار گرفتند. در این آزمایش استرین *P. fluorescens* bv V کمترین تاثیر را بر وزن ۱۰۰۰ دانه داشت (شکل ۷).



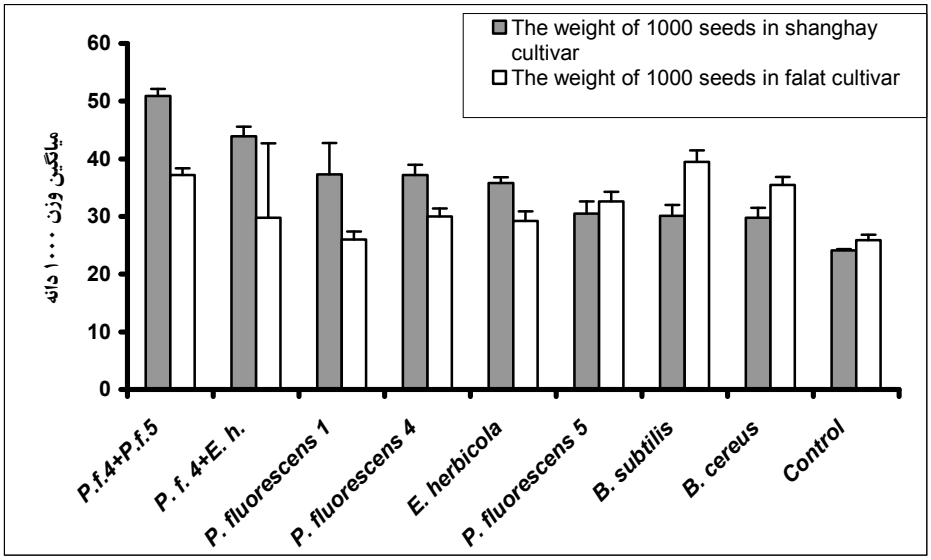
شکل ۱- تأثیر متابولیت‌های مایع خارج سلولی اتوکلاو شده استرین‌های باکتریایی بر میزان رشد پرگنه قارچ عامل بیماری.



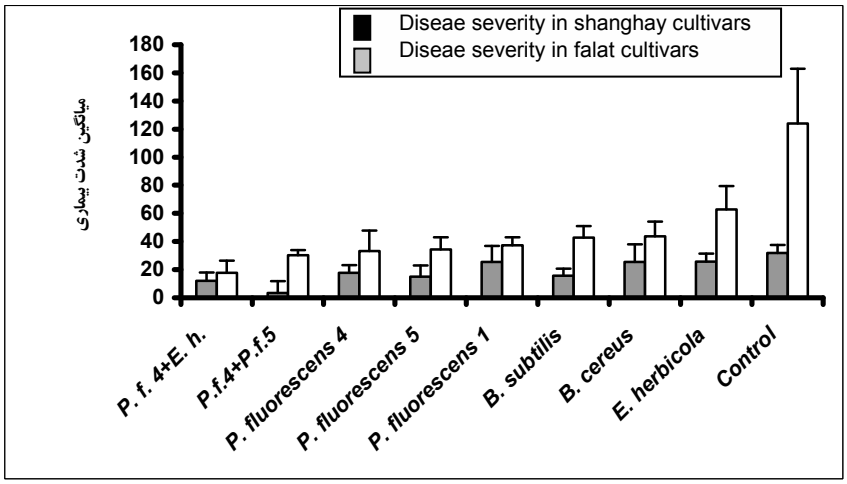
شکل ۲- تأثیر باکتری‌های آنتاگونیست بر روی شدت بیماری حاصل از قارچ عامل بیماری بر روی ارقام شانگهای و فلات در گلخانه.



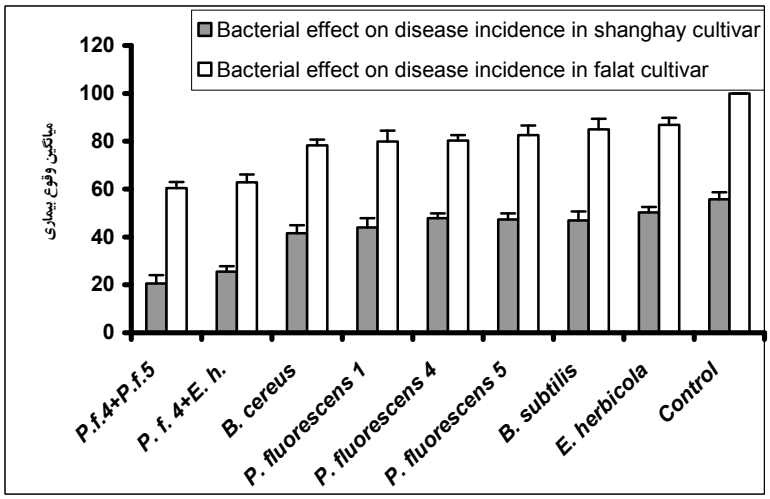
شکل ۳- تأثیر باکتری‌های آنتاگونیست بر روی وقوع بیماری حاصل از قارچ عامل بیماری بر روی ارقام شانگهای و فلات در گلخانه.



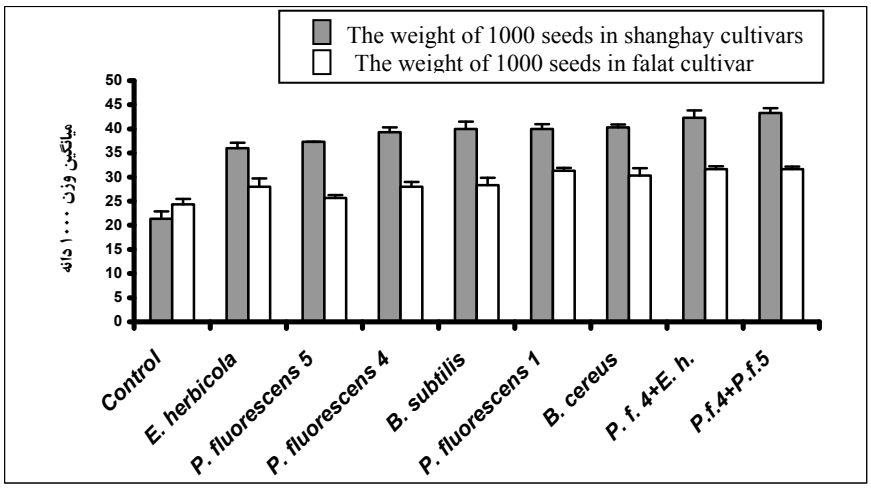
شکل ٤- اثر متقابل باکتری‌های آنتاگونیست و قارچ عامل بیماری بر روی وزن ۱۰۰۰ دانه ارقام شانگهای و فلات در گلخانه (رقم نیمه مقاوم و حساس).



شکل ٥- تأثیر باکتری‌های آنتاگونیست بر روی شدت بیماری حاصل از قارچ عامل بیماری بر روی ارقام شانگهای و فلات در مزرعه.



شکل ٦- تأثیر باکتری‌های آنتاگونیست بر روی وقوع بیماری حاصل از قارچ عامل بیماری بر روی ارقام شانگهای و فلات در گلخانه.



شکل ۷- اثر متقابل باکتری‌های آنتاگونیست و قارچ عامل بیماری بر روی وزن ۱۰۰۰ دانه ارقام شانگهای و فلات در مزرعه

بحث

در این بررسی جدایه‌های *Fusarium graminearum* به‌عنوان عامل بیماری بلایت خوشه گندم جداسازی و شناسایی شد، این نتایج در راستای نتایج بدست آمده توسط سایر محققین در داخل وخارج از کشور است (بامدادیان، و ترابی، ۱۳۶۲؛ گلزار، ۱۳۷۲؛ بوث و بورگس، ۱۹۹۷).

در بین استرین‌های آنتاگونیست مورد مطالعهٔ این پژوهش نیز از لحاظ تولید ترکیبات بازدارنده، تفاوت‌هایی از لحاظ تولید پروتئاز و سلولاز و سایر ترکیبات دیده شد. معمولاً در این آزمایش‌های نتایج حاصل از کاربرد استرین‌ها در روی تیمارهای مختلف یکسان نمی باشد (ولر، ۱۹۸۸). که این موضوع می‌تواند با تفاوت در ویژگی‌های آنتاگونیستی میان استرین‌ها در ارتباط باشد.آزمون تولید سیدروفور فقط برای هر سه بایووار سودوموناس فلورسنت و نیز *Bacillus subtilis* مثبت بود.

بررسی ترشحات مایع خارج سلولی سترون شده استرین‌های باکتریایی نشان داد که تمامی استرین‌ها در روش سترون سازی با اتوکلاو در کاهش رشد پرگنه مؤثر بوده‌اند و این در حالی است که همچنان مخلوط استرین‌ها تاثیر بیشتری را در این مورد نیز داشته‌اند. این نتایج منطبق برمطالعات لیو و همکاران (۱۹۹۵) بوده که مطالعات آنها نشان داد که از میان ۷۶ استرین متعلق به گونه‌های مختلف *Bacillus*، ۳۰ استرین تولید پروتئین‌هایی با ویژگی آنتاگونیستی نمودند که بر روی *F. graminearum* و *Rhizoctonia cerealis* مؤثر بود. برخی از این ترکیبات آنتاگونیستی بعد از تیمار حرارتی (۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه) هنوز اثر آنتاگونیستی خود را حفظ کرده بودند در حالی که تاثیر ضدمیکروبی برخی دیگر از این ترکیبات ضعیف گشته بود.

در آزمایش‌های گلخانه‌ای و نیز مزرعه‌ای در بررسی‌های انجام شده شامل تعیین میزان شدت بیماری، وقوع بیماری و وزن ۱۰۰۰ دانه در تمامی موارد مخلوط استرین‌های باکتریایی آنتاگونیست اثر معنی دار و بیشتری را نسبت به استرین‌های تک جدایه نشان دادند و نیز در بین مخلوط استرین‌ها مخلوط هم جنس استرین‌ها تاثیر بهتری را نسبت به استرین‌های تک جدایه نشان دادند. نتایج حاصل از این تحقیق در زمینه کاربرد مخلوط باکتری‌ها منطبق بر نتایج محققینی چون پیرسون و ولر بوده است که مخلوط باکتری‌ها آنتاگونیست را در زمینه بیوکنترل بیماری پاخوره گندم به کار برده و نتیجه گرفتند که مخلوط جدایه‌های سودوموناس اثر بهتر و بیشتری در

زمینه بیوکنترل این بیماری در مقایسه با کاربرد همان جدایه‌ها اما به صورت منفرد داشته است (پیرسون و ولر، ۱۹۹٤).

اسنه در مورد کاربرد مخلوط باکتری‌ها بیان کرده است که کاربرد استرین‌های منفرد عامل بیوکنترلی به ندرت سطح خوبی از بازدارندگی را نشان می‌دهد و اثرات آن در زمینه کنترل بیماری محدود است (اسنه، ۱۹۸٤). به‌عنوان مثال نتایج مطالعه لوز (۲۰۰۰) نشان داده است که با استفاده ازبکارگیری باکتری‌های *B. subtilis*، *B. megaterium* و *Paenibacillus macerans* کاهش شدت بیماری به میزان ٦۷-۵۰ درصد بدست آمده است. نتایج مطالعات مائو و همکاران (۱۹۷۷) نیز نشان داده که در شرایط گلخانه تعداد گیاهان سالمی که بذور آن‌ها با *B. subtilis* و *Burkholderia cepaci* تیمار شده بود در مقایسه با شاهد تا ۸۳ درصد افزایش یافته است.

اسنه (۱۹۸٤) در مورد کاربرد مخلوط باکتری‌های آنتاگونیست بیان کرده است که کاربرد استرین‌های منفرد عامل بیوکنترلی به ندرت سطح خوبی از بازدارندگی را نشان می‌دهد و اثرات آن در زمینه کنترل بیماری محدود است منطبق با شرایط طبیعی حاکم در ناحیه فیلوسفر گیاهان می‌باشد. در موارد بسیار دیده می‌شود که جمعیت‌های متفاوتی از باکتری‌ها و سایر میکروارگانیزم‌های آنتاگونیست با استفاده از مکانیزم‌های آنتاگونیستی متعدد توان کلونیزاسیون و رقابت پاتوژن‌ها را کاهش داده و شرایط را به نفع گیاهان میزبان تغییر می‌دهند. لذا چنین بنظر می‌رسد که در صورت شناسایی استرین‌های باکتریایی با خواص ضد میکروبی خاص، بهتر است با کاربرد مخلوط آنها قدرت و راندمان بیوکنترلی ایشان را افزایش داد. اگر چه این موضوع همواره و به‌طور مطلق در مورد تمامی عوامل بیمارگر و آنتاگونیست‌ها قابل توصیه نمی‌باشد و نیازمند بررسی‌های موردی و خاص برای هر یک می‌باشد.

منابع

۱.بامدادیان، ع. و ترابی، م. ۱۳٦۲. بیماری‌های گندم و جو نحوه یادداشت برداری از آنها. انتشارات موسسه تحقیقات و آفات بیماری‌های گیاهی، تهران. صفحه ٦۷.

۲.فروتن، ع.، ارشاد، ج. و بامدادیان، ط. ۱۳۷۲. شیوع بلایت خوشه گندم در مازندران. خلاصه مقالات یازدهمین کنگره گیاه پزشکی ایران. رشت. ایران. صفحه ٤۰.

۳.گلزار، ح. ۱۳۷۲. بررسی پراکندگی فوزاریوز خوشه گندم در منطقه گرگان و گنبد و میزان حساسیت ارقام تجاری گندم. خلاصه مقالات یازدهمین کنگره گیاه پزشکی ایران. رشت. ایران. صفحه ٤۲.

٤.یزدی صمدی، ب.، رضایی، غ. و ولی‌زاده، م. ۱۳۷٦. طرح‌های آماری در پژوهش‌های کشاورزی. انتشارات دانشگاه تهران. ۷٤٦ صفحه.

۵.رهنما، ک.، محمدزاده، ع. و رضوی، س.ا. ۱۳۸٤. بررسی تأثیر pH و دما روی رشد *T. koningi* و مقایسه با عوامل فوزاریوز سنبله گندم و فعالیت آنتاگونیستی آن بر علیه این بیمارگرها. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. سال ۱۲. شماره اول. صفحات ۱۳٦-۱۲۷.

٦.صفایی، ن.، علیزاده، ع.ا. ۱۳۸٤. تشخیص مولکولی و بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های ایرانی *Fusarium graminearum* عامل بلایت سنبله گندم. مجله بیماری‌های گیاهی. شماره ۲. جلد ٤۱، صفحان ۱۸۹-۱۷۱.

7.Aoki, T., and O'donnel, K. 1999. Morphological characterization of *Gibberella coronicola* sp. Nov., obtained through mating experiments of *Fusarium pseudograminearum*. Mycoscience. 40:443-453.

8.Burgess, L.W., Summerell, A., Bullock, S., Gott, K.P., and Backkhouse, D. 1994. Laboratory Manual for Fusarium Research. Third Edition. Fusarium Research Laboratory Department of Crop Science University of Sydney and Royal Botanic Garden. 32 pp.

9.El-Meleigi, M.A., and Hassan, Z.M. 2001. *Biological control for root rot of spring wheat by coating seeds with Bacillus or Trichoderma spp. in central Saudi Arabia*. www.ag.auburn.edu/argentina/pdfmaucripts/elmeleigi.pdf
10.Fravel, D.R. 1988. *Role of antibiosis of plant disease*. Annual Review of Phytopathol.. 26: 75-91.
11.Fuming, D., Shiming, Z., and Beiai, Z. 1995. Control effect of four bacterial strain on wheat scab *(Fusarium graminearum)* Acta-Agricultrurate Shanghai, 10: 59-63.
12.Hagedron, C., Gould, W.D., and Bardinelli, T.R. 1989. Rhizobacteria of cotton and their repression seedling disease pathogens. Appl. Environ. Microbial. 55: 2743-2797.
13.Huang, Y., and Wong, P.T. 1998. CA rifampicin-resistant isolates of *burkholderia cepacia (A3R)* reduced crown rot (*Fusarium graminearum)* symptoms. Plant and soil. 203:103-108.
14.Kim, D.S., Weller, D.M. and Cook, R.J. 1997. Population dynamics of *Bacillus sp.* L324-92 R_{12} *and Pseudomonas fluorescens 2*-70RN_{10} in the rhizosphere of wheat. Phytopathol. 87: 559-567.
15.Mao, W., Lewis, J.A., Hebbar, P.K., and Lumsden, R.D. 1997. *Seed treatment with a fungal of bacterial antagonistic for reducing corn damping-off caused by species Pythium and Fusarium*. Plant Disease. 81: 450-454.
16.McMullen, P., and Stack, W. 1998. A Visual Scale to Estimate Severity of Fusarium Head Blight in Wheat. North Dakota State University. Reviewed November. Pp: 1095.
17.Lazzaretti, E., Menten, J.O., and Bettiol, W. 1994. *Bacillus subtilis* antagonistic to the principal pathogens associated with bean and wheat seeds. Fitopathological venezolana, 7: 42-46.
18.Little, T.M., and Hills, F.J. 1978. Agricultural Experimentation Design and Analysis John Willy. & Sons, INC. New York, Chucgester, Brisbance and Toronto, 350 pp.
19.Liu, H., Pan, X., Zhang, X., and Wang, J. 1995. *Experiments on Bacillus strain producting antagonistic protein*. Chines Journal of Biological Control. 11: 160-164.
20.Nelson, E.B., Harman, G.E., and Nash, G.T. 1988. Enhancement of Trichoderma induced biological control of Pythium seed rot and pre-emergence damping-off of peas. Soil Biology and Biochemistry, 20: 145-150.
21.Parry, D.W., Jenkinson, P., and Mcleod, L. 1995. Fusarium ear blight (Scab) in small grain. a-review. Plant Pathology, 44: 207-238.
22.Pierson, E.A., and Weller, D.M. 1994. Use of mixtures of fluorescent Pseudomonads to suppress take-all and improve the growth of wheat. Phytopathol. 94: 940-947.
23.Schaad, N.W.W., Jones, J.B., and Chum, W. 2001.. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. Third eds. A. P. S. : Press. 373 pp.
24.Sneh, B., Dupler, M., Elad, Y., and Baker, R. 1984. Chlamydospore germinatin of Fusarium *oxysporum f.* sp. cucumerinum as affected by fluorescent and lytic bacteria from Fusarium *suppressive soil*. Phytopathol. 47: 1115-1124.
25.Stockwell, C.A., Daluz, W.C., and Bergstron, G.C. 1997. Biocontrol of wheat scab with microbial antagonists. (Abstr.). Phytopathology, 87: 594.
26.Wegener, M. 1992. Optimierung von saatgutpillierungen mit mikrobiellen antagonisten zur biologischen bekampfung Von Fusarium culmorum in Welzen". Diplomarbiet, Universitat Guttingen.
27.Weller, D.M. 1988. Biological control of soil-born plant pathogens in the rhizosphere with Bacteria. Annual Review of Phytopathol. 26: 379-407.

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 13(5), Nov-Dec 2006
www.magiran.com/jasnr

Application of antagonistic bacteria for controlling *Fusarium* Head Blight of wheat caused by *Fusarium graminearum*, on semi-resistance and suceptible cultivars in greenhouse and field conditions

M. Alimi[1], M.J. Soleimani[1], H.A. Rahimian[2] and A.R. Mohajer[3]
[1]Dept. of plant Protection, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamadan, [2]Dept. of plant Protection, Faculty of Agriculture, Mazandaran University, Sari; [3]Plant Pests and Diseases Research Institute, Tehran, Iran

Abstract

Biological control of Fusarium Head Blight (FHB) of wheat caused by *Fusarium graminearum* with bacterial antagonists was investigated. Two hundreds and ten bacterial strains were isolated from healthy heads of wheat and pathogenic fungus also was isolated from infected heads collected from wheat crop field in Gorgan and plain during spring 2003 after the dual culture method, six single bacteria and two mixture bacterial strains were selected for further investigation in greenhouse and field condition. Based on the biochemical, physiological and morphological characteristic the strains were identified as follows, strains 35 and 50 *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, strains 32, 174 and 175 were Pseudomonas flourescens, and strain 64 was *Erwinia herbicola*. *In virto* test, antagonistic effect of volatile and non-volatile antifungal compounds, sidrophore, cellolase, protease and autoclaved filtrate were investigated and their inhibition on fungal growth rate was measured. In this research the effect of antagonistic bacteria on disease severity, disease incidence and the weight of 1000 grains in greenhouse and field condition were studied. In all of experiments mixture strains had better results than single isolates application and the results of this study indicated that all of strains had significant difference in comparison with control application of mixture strains in greenhouse and field condition significantly, had better result than single strains. With attention to that this research has been reviewed in addition to laboratory, greenhouse and natural conditions, the results of field experiments was similar to the previous processes. Therefore using biological control especially in the case of mixture bacterial isolates sounds to be applied.

Keywords: Biological control; *Pseudomonas fluorescens; B. subtilis*; *B. cereus*; *Erwinia herbicola*; Fusarium graminearum