



ارزیابی کنترل بیولوژیکی دو جدایه از اکتینومیستهای ضد قارچی ایرانی بر علیه *Phytophthora parasitica* و *P. citrophthora* در شرایط آزمایشگاه و گلخانه

محمد سالاری^{۱*} - غلامحسین شهیدی بنگار^۲ - بتول صادقی^۳ - ناصر پنجه که^۴ - محمدمهدی امینایی^۵ - طوبی شاکری^۶

تاریخ دریافت: ۸۸/۹/۲

تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۲/۱۱

چکیده

فعالیت ۲۰۰ ایزوله اکتینومیسست بر علیه *Phytophthora parasitica* و *P. citrophthora* مورد ارزیابی قرار گرفت. در میان همه جدایه های اکتینومیسست دو جدایه ۱۹ و ۲۹ فعالیت بالای بیوکنترلی در روشهای دیسک-آگار ونشت دو طرفه در آگار از خود نشان دادند. نتایج نشان داد که ماده مؤثر موجود در عصاره خام دو جدایه ۱۹ و ۲۹ در آب و متانول محلول ولی در کلروفرم نامحلول است. بررسیهای گلخانه ای در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی و آزمون چند دامنه ای دانکن نشان داد که اثر چهار تیمار پاتوژن، آنتاگونیست، پاتوژن به همراه آنتاگونیست و شاهد روی صفات ارتفاع بوته، وزن خشک ریشه، طول و عرض برگ در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی داری دارند و در گروههای جداگانه ای قرار گرفتند. جدایه ۱۹ بر روی ارتفاع، وزن خشک و عرض برگ و جدایه ۲۹ بر روی طول برگ به طور معنی داری بیشترین تاثیر را داشته اند. نتایج تحقیق نشان می دهد که کاربرد این دو جدایه به صورت تولید بیوقارچکشیهای طبیعی مخلوط با خاک در گلخانه باعث کاهش و یا ممانعت از اثرات مخرب بیمارگر می شود. فعالیت بیوکنترل جدایه ها علیه بیمارگرهای مورد بررسی در گلخانه موید فعالیت آنتاگونیستی دو جدایه در آزمایشگاه نیز می باشد.

واژه های کلیدی: گموز مرکبات، *Phytophthora parasitica*، *P. citrophthora*، اکتینومیسست، کنترل بیولوژیکی

مقدمه

شیمیایی در کشاورزی به دلیل آلودگی زیست محیطی و اثرات مخرب روی انواع مختلف ارگانسیمهای غیر هدف در حال کم رنگ شدن است. پتانسیل کاربرد میکروبهها بر پایه عوامل بیوکنترل به عنوان جایگزینها و یا مکمل مواد شیمیایی در بسیاری از گزارشات اخیر آورده شده است (۲۶).

اکتینومیسستها و ویژگیهای دارند که آنها را برای عوامل بیوکنترل بر علیه قارچهای خاکزاد بیمارگر گیاهی مفید می سازد. این ویژگیها شامل تولید انواع مختلف متابولیتهای ثانویه و موادی که از لحاظ بیولوژیکی فعالند و ارزش تجاری دارند مانند آنزیمها و آنتی بیوتیکها هستند. آنها همچنین هدایتگرهای عمده با فرهای بیولوژیکی خاکها بوده و در تجزیه مواد آلی و هدایت آنها به تولید محصول نقش دارند (۱۵، ۲۹).

برخی محققین گزارش کرده اند که در مطالعات آزمایشگاهی نتایج رضایت بخشی از کاربرد اکتینومیسستها بر علیه برخی از بیمارگرهای ریشه به دست آمده است. به عنوان مثال *Streptomyces sp. Strain 5406* در چین برای حفاظت محصول پنبه بر علیه بیمارگرهای **خاکزاد** به مدت ۳۵ سال به کار رفته است (۲۸). نتایج حتی نشان میدهد که کاربرد اکتینومیسستها بویژه

اکتینومیسستها باکتریهای گرم مثبت ساپروفیتیک هستند و به طور وسیعی مورد مطالعه قرار گرفته اند اکتینومیسست ها (به ویژه استریتومایسیسها) معمولاً در خاکهای بازدارنده هستند و جزء تجزیه کننده های مهم به شمار می روند. آنها قادر به متابولیسم بسیاری از ترکیبات مختلف از جمله قند ها، الکلهای، آمینو اسیدها و ترکیبات آروماتیک که بوسیله آنزیمهای برون سلولی هیدرولیتیک تولید میشوند هستند همچنین استریتومایسیسها اهمیت طبی و صنعتی نیز دارند بدلیل اینکه آنها آنتی بیوتیک سنتز میکنند (۱۳، ۱۴ و ۲۱).

در کشاورزی مدرن کاربرد آفت کشها هنوز یک روش موثر و کارآمد برای کنترل بیمارگرهای گیاهی است. بهر حال کاربرد مواد

۴ و ۱- استادیاران گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
(*) نویسنده مسئول: (Email: Salari21m@yahoo.com)

۲- استاد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۳ و ۶- دانشجویان سابق کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۵- مربی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمان

کشت CGA استریل شده و بعد از نگهداری شدن در دمای ۲۸ درجه سانتی گراد به مدت ۶-۴ روز از کشت های خطی که خوب رشد کرده بودند با چوب پنبه سوراخ کن (کرک برر) یک دیسک آگارپرگنه اکتینومیست برداشته سپس دیسکها با دقت روی محیط CMA که حاوی دیسک آگار تازه قارچ بود انتقال داده شد. کنترلها شامل دیسک هایی از CGA بود. تشک ها در دمای ۲۶-۲۵ درجه سانتی گراد به مدت هفت روز نگهداری شده و فعالیت زیستی بوسیله اندازه گیری قطر منطقه ممانعت کنندگی بررسی شد (۱۸ و ۷).

تعیین حلالیت ماده مؤثر ضد قارچی: در این آزمایش، میزان قطبیت ماده مؤثر ضد قارچی در سه حلال کلروفرم، متانول و آب مقطر، بدین ترتیب مشخص شد:

غلظت ۱:۱۰ (w/v) از عصاره خام جدایه های مورد نظر و حلال مورد نظر درون لوله آزمایش تهیه شد، توسط همزن ورتکس کاملاً مخلوط گردید، سپس به منظور جداسازی محلول رویی و رسوب در سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور تقریبی ۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. محلول رویی را توسط دستگاه تبخیر گر دوار کاملاً خشک کرده و سپس این لوله ولوله آزمایش حاوی رسوب را به مدت ۲۴ ساعت، در دسیکاتور قرار داده و بعد از آن به هر لوله آزمایش، دی متیل سولفوکساید و متانول (۱/۱: ۷/۷) اضافه کرده و آزمون زیستی را به روش چاهک علیه قارچ مذکور انجام گرفت (۳ و ۵).

مطالعات گلخانه ای: آزمایش در سال ۱۳۸۶ در گلخانه جهاد کشاورزی استان کرمان اجراء گردید. بذور نارنج به مدت ۳ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۵٪ ضد عفونی سطحی شدوبه مدت پنج روز در آب مقطر استریل نگهداری شدند سپس در عمق مناسب در گلدانها (حاوی شن بادی شسته اتوکلا شده) کاشته شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تکرار انجام گرفت و میانگین ها به روش دانکن مورد مقایسه قرار گرفت. ترتیب تیمارها بدین قرار بود: -قارچ بیمارگر، - باکتری آنتاگونیست جدایه ۱۹، - باکتری آنتاگونیست جدایه ۲۹، ۴-قارچ بیمارگر + باکتری آنتاگونیست جدایه ۱۹، ۵- قارچ بیمارگر + باکتری آنتاگونیست جدایه ۲۹ و ۶- شاهد که هیچ تیماری دریافت نکرد (۲۳).

نحوه اندازه گیری شاخص های رشد: جهت اندازه گیری ارتفاع بوته ها از محل سطح خاک تا جوانه انتهایی خط کشی را قرارداده و ارتفاع هر بوته در مقیاس سانتیمتر اندازه گرفته شد. به منظور وزن کردن ریشه های خشک، بعد از بیرون آوردن نهالها از خاک و شستن ریشه با آب، قسمتهای هوایی از ریشه ها جدا گشته و ریشه ها داخل پاکتهای کاغذی که قبلاً وزن شده بودند، قرار داده شد. پاکتها به داخل انکوباتور بادمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت منتقل شدند، سپس پاکتها وزن گردید و از تفاضل وزن هر یک با وزن پاکت خالی مربوطه، وزن خشک ریشه محاسبه شد (۲۶).

استرپتومایسیسها باعث افزایش رشد محصولات میشوند (۱۰ و ۱۹). برخی محققان کنترل بیولوژیکی فیتوفتورا را به وسیله گونه های اکتینومیست گزارش کرده اند. شهیدی وهمکاران در سال ۲۰۰۴ در آزمایشگاه و گلخانه فعالیت ضد قارچی اکتینومیستها را بر علیه *P. drechsleri* گزارش دادند (۲۴). با در نظر گرفتن نقش اکتینومیستها در کنترل بیولوژیکی قارچهای بیمارگر خاکزی، تحقیق اخیر به دلیل اهمیت موضوع فعالیت اکتینومیستها جداشده از خاکهای باغات مرکبات استان کرمان بر علیه *P. citrophthor* و *P. parasitica* عامل گموز مرکبات صورت گرفته است.

مواد و روش ها

جداسازی قارچ های بیمار گر: برای جدا کردن قارچ درخت مرکبات که نشانه ای دال بر آلودگی به بیماری گموز بود به روش ارشادوالجاندراویال وهمکاران استفاده شد. نمونه ها از مناطق مرکبات کاری (بم، ارزوئیه، شهداد وجیرفت) جمع آوری شد و به آزمایشگاه منتقل شدند هر نمونه در شرایط استریل به قطعات کوچکی با اسکالپل استریل برش داده شدند. قطعات درشتکهای محتوی محیط کشت PARPH منتقل شده و به مدت یک هفته در تاریکی نگهداری شدند. پرگنه های فیتوفتورا به روش نوک ریسسه در روی محیط کشت CMA خالص سازی شدند (۱ و ۴).

جداسازی اکتینومیستها از خاک: به منظور جداسازی اکتینومیستها از خاک چندین نمونه خاک از مناطق مختلف باغات مرکبات استان کرمان به طور تصادفی از عمق ۲۰-۱۰ سانتی متری عمق ریشه درختان نمونه برداری شد (۱۴). نمونه ها در هوای آزاد در آزما یسگاه خشک شده و از الکهای ۰/۸ میلی متر در مش عبور داده شدند. از هر نمونه خاک خشک سوسپانسیون خاک تهیه و از هر کدام رقتهای پی در پی (تا رقتهای ۱۰^{-۶}) آماده شد. یک میلی لیتر از هر کدام از این رقتها با **Casein Glycerin Agar (CGA)** (اتو کلاو شده) در تشک مخلوط و تشک ها در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. از روز هفتم به بعد پرگنه های اکتینومیست جدا سازی و به صورت کشت خالص تا زمان استفاده در یخچال قرار داده شدند (۲۷).

محیط کشت: جهت رشد اکتینومیست های خاکزی محیط کشت Casein Glycerin Agar (CGA) به کار برده شد که متشکل از: گلیسرین یا نشاسته: ۱۰ گرم، کازئین: ۰/۳ گرم، KNO₃: ۲ گرم، NaCl: ۲ گرم، K₂HPO₄: ۲ گرم، MgSO₄.7H₂O: ۰/۰۵ گرم، CaCO₃: ۰/۰۲ گرم، FeSO₄.7H₂O: ۰/۰۱ گرم و آگار: ۱۸ گرم در یک لیتر آب مقطر استریل می باشد (۲ و ۲۷).

غربال نهایی و آزمون زیست سنجی ضد قارچی به روش دیسک - آگار: هر جدایه اکتینومیست به صورت خطی روی محیط

حالات ماده مؤثر ضد قارچی: محتویات لوله آزمایش حاوی محلول رویی درحلال های قطبی (آب مقطر و متانول) هر دو جدایه در آزمون زیستی هاله ممانعت از رشد ایجاد کردند. ولی در کلروفورم بدون اثر بوده و آزمون زیستی هاله ممانعت از رشد ایجاد نکرد. استنتاج می شود که ماده مؤثر موجود در عصاره خام دو جدایه ۲۹ و ۱۹ قطبی بوده و در حلال های آلی غیرقطبی نظیر کلروفورم حل نمیگردد. بنی اسدی و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که **اکتینومیسست** جدا شده از خاکهای کرمان که برای کنترل بیولوژیکی *Sclerotinia sclerotiorum* به کار بردند درحلالهای قطبی (آب مقطر و متانول) محلول ولی درحلال های آلی غیر قطبی نظیر کلروفورم نامحلول است. همچنین عقیقی و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که **اکتینومیسست** جدا شده از خاکهای کرمان که برای کنترل بیولوژیکی *Verticillium dahlia* به کار بردند در حلالهای قطبی محلول ولی در حلالهای غیر قطبی نامحلول است (۳ و ۵). **بنابراین** نتایج حاصل از این پژوهش با تحقیقات مزبور مشابهت دارد.

شاخص های رشد و علایم حاصل از تیمارها:

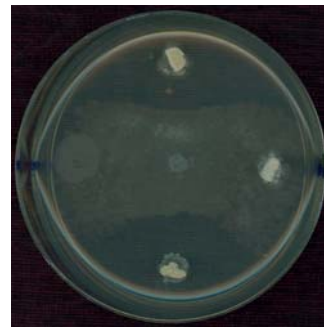
مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف روی صفات ارتفاع بوته، وزن خشک کل گیاه، وزن خشک ریشه، وزن خشک شاخه و برگ در (نمودار ۱ و ۲) آمده است، جدایه ۱۹ در مقایسه با سایر تیمارها با بالاترین میانگین بیشترین اثر را روی کلیه صفات به غیر از طول برگ داشته است. نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین در جداول ۱ و ۲ و نمودار ۱ آمده است. جدایه ۲۹ در مقایسه با سایر تیمارها با بالاترین میانگین بیشترین اثر را روی طول برگ داشته است.

سلامت کامل بوته های سالم در گلدانهای شاهد، زردی، پژمردگی برگها، پوسیدگی ریشه و خشک شدن نهالهایی که با *P. parasitica* و *P. citrophthora* تلقیح شده بودند، وضعیت رشد بهتر نهالهای تلقیح شده با جدایه ۱۹ نسبت به شاهد، عدم مشاهده علایم بیماری در نهالهای تلقیح شده *P. citrophthora* + جدایه ۱۹، *P. parasitica* + جدایه ۱۹، *P. parasitica* + *P. citrophthora* + جدایه ۲۹ و متراکم تر ریشه در گلدانهای تلقیح شده با جدایه ۱۹ و ۲۹ در مقایسه با رشد ریشه در گلدانهای شاهد و رشد کمی بیشتر و متراکم تر ریشه در گلدانهای تلقیح شده با *P. parasitica* + جدایه ۱۹، *P. parasitica* + *P. citrophthora* + جدایه ۲۹ در مقایسه با رشد ریشه در نهالهای تلقیح شده با *P. parasitica* و *P. citrophthora* از نتایج حاصله است. میثرا و همکاران در سال ۱۹۸۷ گزارش کردند که عصاره خالص چند گونه اکتینومیسست خاکزی باعث تحریک رشد گیاه و افزایش وزن خشک در پنبه، سویا، کدو بیابان، گوجه فرنگی و سوسرگوم در گلخانه می شود (۱۹). از سوی دیگر تاریلی و همکاران در سال ۱۹۹۶ تاثیریک جدایه اکتینومیسست رابه صورت

روش محاسبات آماری و تجزیه و تحلیل داده ها : تجزیه واریانس آزمایشات گلخانه ای بر اساس طرح کاملا تصادفی و مقایسه **میانگین** تیمارها، توسط آزمون چند دامنه ای دانکن، با استفاده از نرم افزار SAS صورت گرفت و **نمودارها** توسط نرم افزار Excel رسم شد.

نتایج و بحث

غربالگری وزیست سنجی: در غربالگری برای **متابولیت های** اکتینومیسست خاکزی که فعالیت ضد قارچی بر علیه دو جدایه فیتوفتورا *P. citrophthora*، *P. parasitica* داشتند از ۲۰۰ جدایه غربال شده جدایه های ۱۹ و ۲۹ سطوح بالایی از فعالیت ضد قارچی داشتند. از میان ۲۰۰ جدایه اکتینومیسست جدا شده از خاک وریزوسفر درختان مرکبات در نهایت دو جدایه بعد از آزمون کلروفورم حداکثر فعالیت را علیه *P. parasitica* و *P. citrophthora* از خود نشان دادند. شهیدی بنجار و همکاران در سال ۲۰۰۶ از میان ۱۳۰ جدایه اکتینومیسست توانستند ۱۲ جدایه را در غربال اولیه علیه گموز پسته (*P. dreschleri*) جداسازی کنند. سید و همکاران در سال ۲۰۰۳ از مجموع ۵۰۰ جدایه اکتینومیسست ۱۰ جدایه فعال را علیه *P. capsici* از خاک وریزوسفر گیاه فلفل جداسازی نمودند (۲۳ و ۲۵).



شکل ۱- آزمون زیستی جدایه های ۱۱ استریپتو مایسس، شاهد و جدایه ۲۹ و جدایه ۱۹ (از بالا، در جهت خلاف حرکت عقربه های ساعت) به روش دیسک-آگار علیه *P. parasitica* (عکس اصلی)



شکل ۲- آزمون زیستی جدایه های ۲۹ استریپتو مایسس، ۱۹ و شاهد و جدایه ۲۵ (از بالا، در جهت موافق حرکت عقربه های ساعت) به روش دیسک-آگار علیه *P. citrophthora* (جدایه ۱۷ غیر فعال است). (عکس اصلی)

تولید **متابولیت های** مانند آنتی بیوتیک ها، پلی آمینها، اندول اسید استیک و جیبرلیک اسید باشد که باعث افزایش رشد گیاه از طریق کاهش توانایی بیمارگر و یا حذف آن می شود که مشابه تحقیقات گیک، ناسارو و همکاران است (۲۰۱۱). لذا بیوکنترل بیماری ممکن است فقط در نتیجه آنتی بیوتیکها نباشد و سایر عوامل نظیر پارازیتیسیم، رقابت و مقاومت القایی نیز در آن نقش داشته باشند (۲۳).

تجزیه و تحلیل آماری

با توجه به جدول مقایسه میانگین اثر تیمارها بر روی صفات میتوان گفت در سطح ۵٪ میانگین های دارای حروف مشترک با همدیگر اختلاف معنی دار ندارند و یکسان اعلام میشوند. برعکس میانگین هایی که دارای حروف متفاوت هستند اختلاف معنی داری دارند (جدول ۵). روی صفت ارتفاع بوته تیمار اول با بیشترین میانگین بالاترین اثر را داشته است، روی صفت وزن خشک ریشه تیمار اول با بیشترین میانگین نسبت به تیمار *P. parasitica* اختلاف معنی دار روی صفت مذکور داشته است، روی صفت طول برگ نهال تیمار (جدایه ۲۹) بیشترین میانگین بالاترین اثر را داشته است تیمارهای بیمارگر (*P. parasitica* و *P. citrophthora*) با حداقل میانگین کمترین اثر را داشته است و روی صفت عرض برگ تیمار اول با بیشترین میانگین نسبت به تیمارهای بیمارگر (*P. parasitica* و *P. citrophthora*) اختلاف معنی دار روی صفت مذکور داشته است. جدول تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بروی هر کدام از صفات به تفکیک در جداول (۲، ۱، ۳) آمده است.

در مجموع یافته های تحقیق حاضر تأثیر متابولیت های ضد قارچی اکتینومیست ها را در کنترل بیمارگرهای مورد مطالعه نشان میدهد. تحقیقات صورت گرفته نشان داد که در باغات مختلف مرکبات استان کرمان ریزوباکتری های آنتاگونیست بخصوص از اکتینومیستها وجود دارد که با توجه به جداسازی آنها از خاک باغات سالم می توان گفت که این باکتری ها احتمالاً مسئول کاهش طبیعی بیماری در آن مناطق هستند.

همراه با *P. cinnamomi* و به تنهایی روی گیاه *Banksia grandis* در گلخانه آزمایش کردند و چنین نتیجه گرفتند که جدایه اکتینومیست باعث افزایش رشد ریشه و وزن جوانه ها شده است (۸). فیلونو و لوکوود در سال ۱۹۸۵ نشان دادند که *Actinoplants sp.* باعث کاهش پوسیدگی ریشه سویا با عامل *P. megasperma* و افزایش وزن ریشه و جوانه سویا می شود (۱۰). همچنین هان و همکاران در سال ۲۰۰۸ گزارش کردند که سویه *Streptomyces griseus BH7* باعث افزایش رشد اندامهای هوایی در گندم شده است (۱۴). از یک سو ناسارو و همکاران در سال ۲۰۰۳ نشان دادند که *Streptomyces griseolutes* از طریق تولید پلی آمینها شامل پوترسکین، اسپرمیدین و اسپرمین باعث افزایش رشد در گیاه لوبیا می شود و از سوی دیگر بیان داشتند که تلقیح خاک با *Streptomyces griseolutes* باعث افزایش سطوح پوترسکین، اسپرمیدین و اسپرمین اندوژنوس و تنظیم کننده های رشد گیاهی (PGRs) که شامل ایندول اسید استیک و جیبرلین اسید است می شود (۲۰). بنابراین نتایج حاصل از این پژوهش با تحقیقات مزبور **مشابهت** دارد. آزمایشات گلخانه ای نشان دادند که هر دو جدایه اکتینومیست در مقایسه با تیمار شاهد و بیمارگر اثر افزایشی در رشد ریشی گیاه داشتند و هر دو باعث کاهش و یا کنترل بیماری شده است این موضوع به دلیل آن است که حضور بیمارگر اثر تحریک کنندگی رشد گیاه را که در معرض جدایه های اکتینومیست قرار دارند را کاهش نمی دهد و فعالیت بیماری زایی این بیمارگرها مستقل از کنترل بیولوژیکی جدایه های اکتینومیست است و چنین استنباط می شود که اکتینومیستهای تحریک کننده رشد گیاه در اطراف ریزوسفر بیشتر از سایر نقاط دیگر با بیمارگرها در رقابت هستند و مقاومت القایی در گیاهانی که با اکتینومیست تلقیح شده اند افزایش یابد (۹). همچنین افزایش رشد گیاه بوسیله جدایه های اکتینومیست میتواند در نتیجه فعالیت های مستقیم و یا غیر مستقیم زیادی باشد و به دلیل آن است که فعالیت مستقیم جدایه های به کار برده شده در رشد گیاه می تواند ساختن مواد غذایی، تولید تنظیم کننده های رشد در گیاه و یا در ریزوسفرها از طریق القا به میکروارگانیسم ها تحریک کنند و یا اثرات غیر مستقیم وابسته به

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف *P. parasitica* و *P. citrophthora*، جدایه ۱۹، جدایه ۲۹، جدایه +۱۹ *P. citrophthora*، جدایه +۲۹ *P. parasitica*، جدایه +۲۹ *P. parasitica*، جدایه +۱۹ بر روی میانگین وزن خشک ریشه بر حسب گرم

(تیمار هادر سطح ۰/۰۵ دارای اختلاف معنی دار هستند)

S.O.V	df	SS	MS	F
کل	۹۵	۱		
تیمار	۱۵	۶	۰/۰۱۷۶	۷۵/۵۳*
خطا	۰	۱	۰/۰۰۰	
CV=۳/۵۱				

جدول ۲- جدول تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف *P. parasitica* و *P. cithrophthora*, جدایه ۱۹, جدایه ۲۹, جدایه +*P. cithrophthora* ۱۹, جدایه +*P. parasitica* ۲۹, جدایه +*P. parasitica*, *P. cithrophthora* ۲۹, جدایه +*P. parasitica*, *P. cithrophthora* ۲۹, جدایه +*P. parasitica* بر روی میانگین ارتفاع بوته (تیمار هادر سطح ۰/۰۵ دارای اختلاف معنی دار هستند)

S.O.V	df	SS	MS	F
کل	۹۵	۷/		
تیمار	۱۵	۱۷ / ۱۹۶	۱۱/ ۷	۱۵/۱۹*
خطا		۹/۶	۰/۶	
CV=۳/۰				

جدول ۳- جدول تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف *P. parasitica* و *P. cithrophthora*, جدایه ۱۹, جدایه ۲۹, جدایه +*P. cithrophthora* ۱۹, جدایه +*P. parasitica* ۲۹, جدایه +*P. parasitica*, *P. cithrophthora* ۲۹, جدایه +*P. parasitica* بر روی میانگین طول برگ (تیمار هادر سطح ۰/۰۵ دارای اختلاف معنی دار هستند)

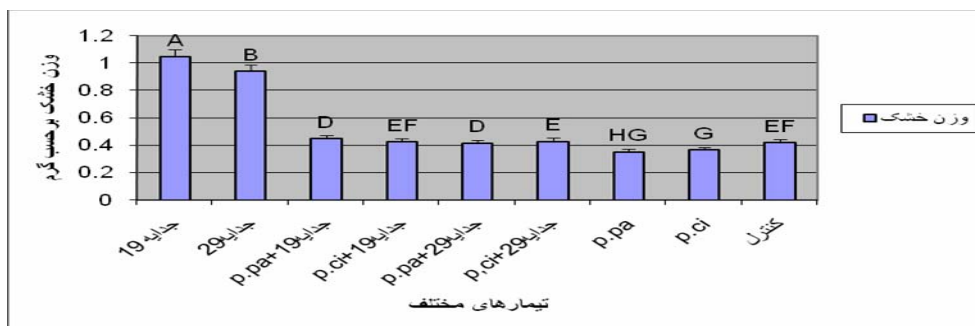
S.O.V	df	SS	MS	F
کل	۹۵	۱۵/۰۰۰۹		
تیمار	۱۵	۱۳/۰	۰/۹	
خطا		۱/۶۰	۰/۰	۱/۶۹*
CV=۶/۳				

جدول ۴- جدول تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف *P. parasitica* و *P. cithrophthora*, جدایه ۱۹, جدایه ۲۹, جدایه +*P. cithrophthora* ۱۹, جدایه +*P. parasitica* ۲۹, جدایه +*P. parasitica*, *P. cithrophthora* ۲۹, جدایه +*P. parasitica* بر روی میانگین عرض برگ (تیمار هادر سطح ۰/۰۵ دارای اختلاف معنی دار هستند)

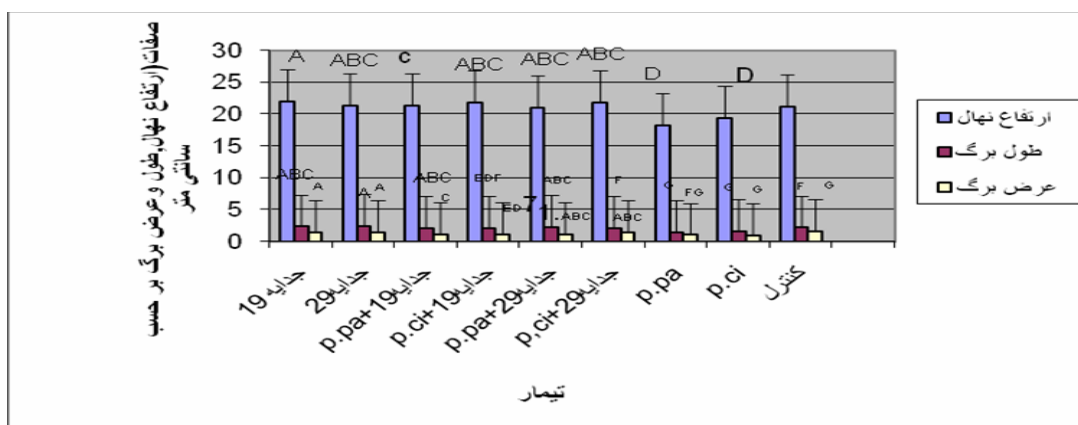
S.O.V	df	SS	MS	F
کل	۹۵	۵/		
تیمار	۱۵	۳/۵	۰/۳	۱۱/۶۳*
خطا		۱/۶	۰/۰	
CV= ۱۱/				

جدول ۵- مقایسه میانگین های اثر تیمارها بر روی صفات مختلف با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن که میانگین های با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد هستند.

صفات تیمار	ارتفاع بوته	وزن خشک ریشه	طول برگ	عرض برگ
جدایه ۱۹	۲۲a	۰/۵۳ a	۲/۴ abc	۱/۶a
جدایه ۲۹	۲۱/۵abc	۰/۵۱b	۲/۵a	۱/ ۵ ab
<i>P. cithrophthora</i> + جدایه ۱۹	۲۰/۸ c	۰/۴۲ ef	۲/۲ edf	۱/۲ ed
<i>P. parasitica</i> + جدایه ۱۹	۲۱/۵abc	۰/۴۵ d	۲/۳ adc	۱/ ed
جدایه + <i>P. cithrophthora</i> ۲۹	۲۱/۳abc	۰/۴۵d	۲/۴abc	۱/ ed
جدایه + <i>P. cithrophthora</i> ۲۹	۲۱/۳abc	۰/۴۵e	۲/۰۸f	۱/۲ab
<i>P. parasitica</i>	۱۸d	۰/۳۵hg	۱/۸g	۰/۹fg
<i>P. cithrophthora</i>	۱۹d	۰/۳۶g	۱/۸g	۰/ ۹۳G
شاهد	۲۰/۳Ac	۰/۴۳Ef	۲/۱f	۱/۴ed



نمودار ۱- اثر تیمارهای مختلف *P. parasitica*, *P. citrophthora*، جدایه ۱۹ و ۲۹ **اکتینومیست**، جدایه ۱۹+*P. citrophthora*، *P. + P. citrophthora*، *P. parasitica*، جدایه ۲۹+*P. parasitica* بر روی میانگین وزن خشک ریشه (بر حسب گرم)



نمودار ۲- اثر تیمارهای مختلف *P. parasitica*, *P. citrophthora*، جدایه ۱۹ و ۲۹ **اکتینومیست**، جدایه ۱۹+*P. citrophthora*، *P. + P. citrophthora*، *P. parasitica*، جدایه ۲۹+*P. parasitica* بر روی میانگین ارتفاع نهال، طول و عرض برگ (بر حسب سانتی متر)

سپاسگزاری

از همکاری های صمیمانه کارکنان حفظ نباتات استان کرمان و سرکار خانم نفیسه مهدی نژاد قدردانی می شود.

نتایج آزمایش های گلخانه ای نشان داد که جدایه های ۱۹ و ۲۹ اثر قابل توجهی در کنترل بیمارگرهای مهم قارچی خاکزاد داشته اند. نتایج نشان داد که این باکتری ها تأثیر قابل توجهی بر رشد گیاه و توسعه ریشه ها در شرایط عاری از بیمارگرها داشته و می توانند در افزایش عملکرد گیاه مؤثر باشند.

منابع

- ۱- ارشاد ج. ۱۳۷۱. گونه های فیتوفترا در ایران (جداسازی - خالص سازی - شناسایی). وزارت کشتا و زری، سازمان تحقیقات کشاورزی. ص: ۱۶.
- 2- Aghighi S., Shahidi Bonjar G. H., Rawashdeh R., Batayneh S., and Saadoun I. 2004. First report of antifungal spectra of activity of Iranian Actinomycetes strains against *Alternaria solani*, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani*, *Phytophthora megasperma*, *Verticillium dahliae* and *Saccharomyces cerevisiae*. Asian Journal of Plant Science 3: 463-471.
- 3- Aghighi S., Shahidi Bonjar G. H., and Saadoun I. 2004. First Report of Antifungal Properties of a New Strain of *Streptomyces plicatus* (Strain101) Against Four Iranian Phytopathogenic Isolates of *Verticillium dahliae*, A New Horizon in Biocontrol Agents Biotech Year: 2004 | Volume: 3 | Issue: 1 | Page No.: 90-97
- 4- Alejandra vial, Bernardo., Latorre A., and Ortuzar J. 2006. Characterization of *Phytophthora citrophthora*

- and P.inuidata associated to food and root rot of citrus trees in Chile.Cien.Inv.Agr33(3):205-216.
- 5- Aniasadi F., Shahidi Bonjar G. H., Baghizadeh A., Karimi Nik A., Jorjandi M., Aghighi S., and Rashid Farokh P. 2009. Biological Control of *Sclerotinia sclerotiorum*, Causal Agent of Sunflower Head and Stem Rot Disease, by Use of Soil borne Actinomycetes Isolates. American Journal of Agricultural and Biological Sciences 4 (2): 146-151, ISSN 1557-4989.
 - 6- Brown M. E. 1974. Seed and root bacterization. Ann.Rev.phytophathol.,12:181-197.
 - 7- Campell W. A. 1949. A method of isolating *Phytophthora cinnamomi* directly from soil. Dis. 33:134-135.
 - 8- Dhingra O. D., and Sinclair J. B. 1995. 'Basic plant pathology methods'. CRC Press: USA, pp: 287- 296, 390- 391.
 - 9- El-Tarabily K. A., Sykes M. L., Hardy J., Krutbok I. D., Barbosa A. M., Dekker F. H. 1996. Synergistic effects of a cellulose-producing Micromonospora carbonacea and an antibiotic-producing Streptomyces violascens on the suppression of *phytophthora cinnamomi* root rot of Bankesia garandis. Canadian Journal of Botany 74:618-628.
 - 10- El-Tarabily K. A., and Krishnapillai Sivasithampara. 2006. Non-Streptomyces biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. soil biology and Biochemistry 38:1505-15-20.
 - 11- Filonow A. B., and Lockwood J. K. 1985. Evaluation of several Actinomycetes and the fungus *Hyphochytrium catenoides* as biocontrol agents for *Phytophthora* root rot of soybean .Plant.Dis. 69:1033-1036.
 - 12- Gick B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Microbiology 41-109-117.
 - 13- Ghampness W. 2000. Actinomycete development, antibiotic production, and phylogeny: questions and challenges. In: 'Prokaryotic Development'. (Eds YV Brun and LJ Shimkets), ASM Press: USA, pp: 11-31.
 - 14- Goshi K., Uchida T., Lezhava A., Yamasaki M., Hiratsu K., Shinkawa H., and Kinashi H. 2002. Cloning and analysis of the telomere and terminal inverted repeat of the linear chromosome of *Streptomyces griseus*. Journal of Bacteriology 184: 3411-3415.
 - 15- Hanan H., Mohamed H., Virrol M., and Yedir O. 2008. Rock phosphate-solubilizing Actinomycetes: screening for plant growth-promoting activities. World J Microbiol Biotechnol 24:2565-2575.
 - 16- Katznelson H., and Cole S. E. 1965. Production of gibberellin-like substances by bacteria and actinomycetes. Canadian journal of Microbiology 11:733-741.
 - 17- Lee J. Y., and Hwang B. K. 2002. Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. Canadian Journal of Microbiology 48: 407-417.
 - 18- Lee H. B., Kim Y., Kim G. C., Choi G. J., Park S. H., and Kimand C. G. 2005. Activity of some aminoglycoside antibiotics against true fungi *phytophthora* and *Pythium* species. Journal of Applied Microbiology 99:836-843.
 - 19- Maloy O. C. 1993. Plant disease control, principle and practice. John wiley and Sons, Inc: USA. Pp:235-249.
 - 20- Marten P., Bruckner, S., Minkwitz A., Luth P., and Berg G. 2000. Rizovit: impact and Formulation of microbial Inoculant. COST Action 830/microbial inoculant for agriculture and environment .(Eds.Koch,E.and P.Leiononen),pp:78-82.
 - 21- Mishra S. K., Taft W. H., Putnam A. R., and Rise S. K. 1987. Plant growth regulatory metabolites from novel Actinomycetes .Plant Growth Regulation.6:75-84.
 - 22- Nassar A. H., El-Terabily K. A., and Sivasthamparam K. 2003. Growth promotion of bean by a polyamine-productive isolate of *Streptomyces griseolutus*. Plant Growth Regulation 40:97-106.
 - 23- Okami Y., and Hotta K. 1988. Search and discovery of new antibiotics. In: 'Actinomycetes Biotechnology'. (Eds M Goodfellow, ST Williams and M Mordarski). Academic Press: London pp: 33-67.
 - 24- Park J. H., Lee Y., Sun H. I., Sik Y. B., Seok K. B., and Byung K. H. 2006. Isolation and antifungal and antimycete activities of staurosporine from *Streptomyces roseoflavus* strain LS-A24. J. Agric. Food Chem 54 (8): 3041 -3046.
 - 25- Id A., Ezziyany M., Egea-Gilabert C., And Candelai M.E. 2003. Selecting bacterial strains for use in the biocontrol of diseases caused by *Phytophthora capsici* and *Alternaria alternata* in sweet pepper plants. Biologia Plantarum 47 (4): 569-574.

- 26- Shahidi Bonjar G. H., Fooladi M. H., Mahdavi M. J., and Shahghasi A. 2004. Broadspectrim, a novel antibacterial from *Streptomyces* sp. *Biotechnology* 3: 126-130.
- 27- Shahidi Bonjar G. H., Barkhordar B., Pakgozar N., Aghighi S., Biglary S., Rashid Farrokhi P., Aminaii M., Mahdavi M. J., and Aghelizadeh A. 2006. Biological control of *Phytophthora drechsleri* Tuler the causal agent of Pistachio Gummosis under Greenhouse Conditions by use of Actinomycetes. *Plant Path.* 5(1):20-23.
- 28- Shimizu M., Nakagawa Y., Sato Y., Furumai T., Igaroshi Y., Onaka H., Yoshida R., and Kunoh H. 2000. Studies on endophytic Actinomycetes (I) *Streptomyces* sp. isolated from Rododendron and its antifungal activity. *Journal of General Plant Pathology* 66: 360-366.
- 29- Saadon I., AL-Momani F., Malkaawi H., and Mohamad M. J. 1999. Isolation, identification and analysis of antibacterial activity of cihl Streptomycetes isolates from north Jordan. *Microbios.* 100:41-46.
- 30- Valois D., Fayad K., Barasubiye T., Garon M., Dery C., Brzezinski R., and Beaulieu C. 1996. Glucanolytic actinomycetes antagonistic to *phytophthora fragariae* var. *rubi*, the causal agent of raspberry root rot. *Applied Environ. microbiol.*, 62:1630-1635.
- 31- Wheeler C. T., Crozier A., and Sandberg G. 1984. The biosynthesis of indol03-axetic by *Frankia* sp. *Plant and Soil* 78: 99-104.