

Antagonistic Activity of some *Streptomyces* spp. Isolates Against Key Bacterial Pathogens of Potato

E. Rezazadeh¹, F. Shahryari^{*1}, A. Aali Mohammadi¹

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

*- Corresponding author's Email: shahryari@znu.ac.ir

<https://doi.org/10.22067/JPP.2026.99117.1285>

Introduction

Potato is one of the most important food crops after wheat, rice, and corn. Plant pathogens caused quantitative and qualitative damages to this crop in all stages of growth. *Ralstonia solanacearum* causing the widespread disease known as bacterial wilt, *Pectobacterium atrosepticum* causing blackleg of potato, *Pectobacterium carotovorum* (Pc) causing soft rot disease of various plant hosts and blackleg in potato, and pathogenic *Streptomyces* spp. which causes common scab, are important problems in the cultivation of this plant all over the world. The conventional techniques to manage these diseases, i.e., applying chemical pesticides have adverse effects on human health and the environment. Furthermore, these methods caused the emergence of resistance among phytopathogens. Therefore, biocontrol agents are essential for reducing the need to dangerous pesticides and protecting plants from diseases. The *Streptomyces* genus of gram-positive bacteria has a capacity to produce diverse antimicrobial compounds, such as metabolites and organic compounds. This study aimed to select and identify non pathogenic *Streptomyces* spp. with efficient antagonistic activity against the mentioned pathogens *in vitro* conditions. Also, the effect of selected antagonist *Streptomyces* spp. was evaluated on the soft rot incidence and the fresh and dry weight of potato plants grown in sterile soil and in soil infested with *Pectobacterium carotovorum* in greenhouse conditions.

Materials and Methods

In the present study, *P. carotovorum* strain 8, *P. atrosepticum* strain SCR, *R. solanacearum* strain 4, pathogenic *Streptomyces* sp. strain 12 and 200 isolates belonging to the *Streptomyces* genus were obtained from department of plant protection, University of Zanjan. The pathogenicity test was performed on potato tubers for 200 isolates of *Streptomyces* spp. and the isolates without pathogenicity were selected for antagonistic activity against four mentioned pathogenic bacteria according to cross streak assay and chloroform test on nutrient agar medium. Also, the antibacterial efficacy of culture filtrates from selected antagonist isolates was evaluated in laboratory conditions, and then gas chromatography analysis was performed for the metabolites. Phenotypic and molecular identification of the selected antagonist isolates were conducted using conventional phenotypic tests and 16S rRNA gene sequencing. Also, phylogenetic relationships of the selected antagonist isolates with other sequences available in the GenBank database were determined and a phylogenetic tree based on partial 16S rRNA gene sequences was constructed using the Maximum Likelihood method with 1000 bootstrap replicates. In the greenhouse conditions, antagonistic activity of selected strains was evaluated as the pretreatment of potato tubers (cv. Marfona) with selected antagonist *Streptomyces* spp. isolates, either individually or in combination, and planted tubers in the sterile soil and in soil infested with *P. carotovorum* strain 8. Then 40 days after inoculation, the disease incidence and fresh and dry weight in different treatments were assessed.

Results and Discussion

Among 200 isolates of *Streptomyces* spp., 30 non pathogenic isolates were selected according to pathogenicity test on potato tubers and their antagonistic activity was assessed by cross streak and chloroform assays towards the mentioned pathogenic species. The isolates AEFB88, 7 and AEB133 exhibited inhibitory activity against pathogenic bacteria. The inhibition zone diameter produced by bacterial antagonists ranged from 10 to 50mm. Also, the culture filtrates

of three antagonist isolates showed growth inhibition of *P. atrosepticum* and *P. carotovorum* seven to 14 days after extraction. In the gas-chromatography of culture filtrates of selected isolates, compounds such as tetramethoxystyrene and trifluoromethylbenzylamine were detected in the isolate 7, benzene dicarboxylic was identified in the isolate AEFB88, and benzothiophene acetamide and isothioureia were detected in the isolate AEB133. Phylogenetic tree based on partial 16S rRNA gene sequences showed the taxonomic position of selected antagonists. Isolates AEFB88, 7 and AEB133 formed a clade with the type strains of *Streptomyces deccanensis*, *Streptomyces albogriseolus* and *Streptomyces griseus*, respectively. In the greenhouse conditions, the effect of selected isolates on the disease incidence showed that although none of the three isolates protected the potato plants completely against Pc, but the *Streptomyces* sp. AEB133 isolate was effective against Pc and reduced the disease incidence by 60% compared to the positive control. Therefore, biological control of soil-borne pathogens is facilitated by microorganisms that are active in the root zone. Moreover, the effect of the selected antagonist isolates on growth parameters of potato plants revealed that the *Streptomyces* sp. AEB133 isolate increased the fresh and dry weight of the inoculated plants significantly in comparison with the negative and positive controls. This isolate increased the fresh and dry weight of potato plant, 51g and 8g respectively, in the steril soil. Also, in the presence of *P. carotovorum*, the highest fresh and dry weight, with averages of 36g and 7g, was related to the *Streptomyces* sp. AEB133 isolate.

Various studies have determined that *Streptomyces* species are sustainable alternatives to chemical fertilizers that stimulate plant growth by producing substances such as indole-3-acetic acid, cytokinin, and siderophores. Moreover, they are bioinoculants against bacteria, fungi, nematodes, and viruses, and protect plants by producing antimicrobial metabolites, enzymes, nutrient competition, mycoparasitism, and plant defense regulation.

Conclusion

This study demonstrates that *Streptomyces* sp. strain AEB133 has significant antagonistic capacity against important bacterial pathogens of potato *in vitro* and *in vivo* conditions. In addition to disease control, this strain promotes plant growth factors compared to the controls. This allows us to affirm that it is possible candidate for use in biological control programs in the production of this crop as part of sustainable agriculture practices.

Keywords: Bacterial wilt, Black leg, *Pectobacterium* sp., Potato common scab, Soft rot

فعالیت همستیزی برخی از جدایه‌های *Streptomyces* spp. علیه بیمارگرهای مهم باکتریایی سیب‌زمینی

الهام رضازاده^۱، فاطمه شهریاری^{۱*}، اشکان عالی محمدی^۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۳/۱۳

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۵/۰۵/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۳۱

۱- گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

*- نویسنده مسئول: shahryari@znu.ac.ir

<https://doi.org/10.22067/JPP.2026.99117.1285>

۱ چکیده

- ۲ باکتری‌های *Ralstonia solanacearum*، *Pectobacterium atrosepticum*، و *P. carotovorum* گونه‌های
- ۳ بیماریزای *Streptomyces* spp. از جمله مهم‌ترین بیمارگرهای باکتریایی هستند که کشت گیاه سیب‌زمینی را در سراسر
- ۴ دنیا دچار مشکل می‌کنند. در این تحقیق مهار زیستی این بیمارگرها با جدایه‌هایی از *Streptomyces* spp. بررسی شد.
- ۵ از بین ۲۰۰ جدایه، تعداد ۳۰ جدایه غیر بیماری‌زا انتخاب شدند و فعالیت ضدباکتریایی آنها با آزمون خط متقاطع و با
- ۶ استفاده از کلروفرم مقابل گونه‌های بیمارگر بررسی شد. جدایه‌های AEFB88، 7 و AEB133 با ایجاد هاله‌های بازدارنده
- ۷ با قطر ۱۰ تا ۵۰ میلی‌متری از رشد بیمارگرها جلوگیری کردند. همچنین مایع کشت فیلتر شده سه جدایه، هفت تا ۱۴
- ۸ روز بعد از استخراج نیز بازدارندگی از رشد را نشان دادند. در کروماتوگرافی گازی مایع کشت فیلتر شده جدایه‌های منتخب
- ۹ ترکیباتی چون تترامتوکسی استایرن و تری فلورومتیل بنزیل آمین در جدایه 7، بنزن دی کربوکسیلیک اسید در جدایه
- ۱۰ AEFB88 و بنزوتیوفن استامید و ایزوتیواوره در جدایه AEB 133 شناسایی شد. در درخت فیلوژنتیکی ترسیم شده بر
- ۱۱ اساس توالی نوکلئوتیدی ژن 16S rRNA، جدایه‌های منتخب AEFB88، 7 و AEB133 به ترتیب با استرین‌های تیپ
- ۱۲ گونه‌های *Streptomyces deccanensis*، *Streptomyces albogriseolus* و *Streptomyces griseus* در یک
- ۱۳ کلاذ قرار گرفتند. در شرایط گلخانه، اثر مهار زیستی جدایه‌های منتخب بر وقوع بیماری پوسیدگی نرم و وزن تر و خشک
- ۱۴ گیاه سیب‌زمینی در حضور بیمارگر *P. carotovorum* نشان داد که تمامی جدایه‌ها نسبت به شاهد مثبت درصد وقوع
- ۱۵ بیماری را کاهش دادند. همچنین، این جدایه‌ها موجب افزایش وزن تر و خشک گیاه نسبت به شاهد مثبت شدند. جدایه
- ۱۶ *Streptomyces* sp. AEB133 بهترین عملکرد را داشت و با ۲۲ درصد آلودگی (در مقایسه با وقوع بیماری ۱۰۰ درصد
- ۱۷ در شاهد مثبت) و افزایش وزن تر و خشک گیاه به ترتیب به ۳۶ و هفت گرم، به عنوان مؤثرترین جدایه در مهار زیستی و
- ۱۸ تحریک رشد گیاه معرفی شد.

۱۹ **واژه‌های کلیدی:** پژمردگی باکتریایی، پوسیدگی نرم، جرب معمولی سیب‌زمینی، ساق سیاه، *Pectobacterium* sp.

۲۳ مقدمه

- ۲۴ سیب‌زمینی اهمیت اقتصادی فراوان و نقش راهبردی در سبد غذایی مردم جهان دارد، به‌طوری‌که بعد از گندم، برنج و
- ۲۵ ذرت چهارمین محصول مهم به شمار می‌رود. ایران نوزدهمین کشور تولیدکننده سیب‌زمینی در دنیا و همچنین رتبه چهارم

- ۱ در آسیا بعد از چین، هند، و بنگلادش است (FAO, 2020). بیماری‌های باکتریایی یکی از مهم‌ترین عوامل
- ۲ محدودکننده تولید سیب‌زمینی هستند (Charkowski et al., 2020). از جمله این بیماری‌ها می‌توان به پژمردگی
- ۳ آوندی ناشی از *R. solanacearum* اشاره کرد که در بسیاری از کشورهای تولیدکننده سیب‌زمینی شدیدترین
- ۴ بیماری باکتریایی و تهدید مهمی برای تولید سیب‌زمینی است و با آلودگی پنهان در اندام‌های گیاهی گسترش
- ۵ می‌یابد (Liu et al., 2026; Atallah et al., 2011). همچنین، پوسیدگی نرم ناشی از *P. carotovorum*
- ۶ یکی از مهم‌ترین محدودیت‌های تولید تجاری سیب‌زمینی محسوب می‌شود که در مراحل کاشت و انبارداری
- ۷ خسارت‌های اقتصادی قابل توجهی را به این محصول وارد می‌کند (Charkowski et al., 2020; Eshghpour
- ۸ et al., 2018). این بیمارگر علاوه بر سیب‌زمینی، بافت‌های گوشتی و میوه محصولاتمانند گوجه‌فرنگی، هویج،
- ۹ خیار و زنبق، همچنین برگ گیاهانی نظیر کاهو، کلم و اسفناج و ساقه گیاهانی مانند موز و ذرت را نیز آلوده
- ۱۰ می‌کند (Arias & Murray, 2008). همچنین ساق سیاه سیب‌زمینی با عامل *P. atrosepticum* بیماری
- ۱۱ مهم دیگری است که عمدتاً از طریق غده‌های بذری آلوده منتقل می‌شود و با سیاه شدن ساقه و پوسیدگی غده
- ۱۲ همراه است (Hatami Gigloo et al., 2015). بیماری جرب معمولی ناشی از *Streptomyces* spp. نیز با
- ۱۳ ایجاد زخم‌های نکروتیک برجسته، فرورفته یا سطحی، کیفیت و بازارپسندی غده‌های سیب‌زمینی را کاهش می‌دهد
- ۱۴ (Ahmadi & Khakvar, 2016). مطالعات ثابت کردند که کنترل این بیماری‌ها بسیار مشکل است. چون
- ۱۵ غده‌های بذری سیب‌زمینی منبع اینوکولوم اولیه اصلی است و همچنین این بیمارگرها خاک‌زاد هستند (Sagar et
- ۱۶ al., 2022).
- ۱۷ استفاده از روش‌های شیمیایی در مدیریت بیماری‌های گیاهی به دلیل آلودگی‌های زیست‌محیطی و ظهور
- ۱۸ جدایه‌های مقاوم با محدودیت مواجه شده است. از این‌رو، عوامل میکروبی و متابولیت‌های آن‌ها به دلیل
- ۱۹ حساسیت‌زایی کمتر در زمینه ظهور جدایه مقاوم، تجزیه‌پذیری در محیط و صرفه اقتصادی، به‌عنوان گزینه‌های
- ۲۰ مناسب در مدیریت تلفیقی آفات و بیماری‌های گیاهی مورد توجه قرار گرفته‌اند (Liu et al., 2026; Algeblawi
- ۲۱ & Adam, 2013).
- ۲۲ اکتینومیسست‌ها گروهی از باکتری‌های گرم مثبت هستند که به‌دلیل توانایی تولید آنتی‌بیوتیک‌ها و آنزیم‌های مختلف به
- ۲۳ عنوان گزینه مناسبی برای مهار زیستی بیمارگرهای گیاهی مطرح هستند (Donald et al., 2022). با توجه به اهمیت
- ۲۴ اقتصادی و غذایی سیب‌زمینی و ضرورت توسعه راهکارهای پایدار و سازگار با محیط‌زیست برای مدیریت بیماری‌های آن،

- ۱ این پژوهش با هدف ارزیابی توانایی جدایه‌هایی از *Streptomyces* spp. در مهار زیستی برخی از مهم‌ترین بیمارگرهای
- ۲ خاک‌زاد سیب‌زمینی در شرایط آزمایشگاه انجام شد. همچنین، اثر جدایه‌های منتخب بر مهار زیستی گونه *P. carotovorum* و برخی شاخص‌های رشدی گیاه سیب‌زمینی در شرایط گلخانه بررسی شد. بر این اساس، انتظار می‌رفت
- ۳ برخی از جدایه‌های *Streptomyces* ضمن مهار بیمارگرها، بتوانند موجب بهبود رشد گیاه سیب‌زمینی نیز شوند.
- ۴

۵ مواد و روش‌ها

۶ تهیه جدایه‌های باکتریایی

- ۷ استرین‌های ۸، SCR و ۴ به ترتیب از گونه‌های *P. atrosepticum*، *P. carotovorum* و *R. solanacearum* و
- ۸ جدایه بیمارگر ۱۲ از *Streptomyces* sp. و همچنین تعداد ۲۰۰ جدایه متعلق به جنس *Streptomyces* (جداسازی شده
- ۹ از ریزوسفر سیب‌زمینی مزارع استان همدان) از کلکسیون آزمایشگاه بیماری‌شناسی گیاهی دانشگاه زنجان تهیه شد و
- ۱۰ روی محیط کشت آگار مغذی کشت شدند تا از خالص بودن کلنی‌ها اطمینان حاصل شود.

۱۱ بررسی و تأیید حفظ ویژگی بیماری‌زایی جدایه‌های باکتریایی

- ۱۲ در پژوهش حاضر، به‌منظور اطمینان از حفظ ویژگی بیماری‌زایی جدایه‌های کلکسیونی، آزمون‌های بیماری‌زایی متناسب
- ۱۳ با هر بیمارگر انجام شد.
- ۱۴ برای تعیین بیماری‌زایی جدایه *R. solanacearum*، کشت شبانه جدایه روی محیط کشت SPA (Starch peptone agar) انجام شد و تشکیل کلنی‌های مشخص بیمارگر بررسی شد. کشت روی محیط آگار مغذی به‌عنوان شاهد منفی در
- ۱۵ نظر گرفته شد (Irandoost et al., 2008). بیماری‌زایی *P. carotovorum* با تلقیح کشت شبانه باکتری روی قطعات
- ۱۶ سترون سیب‌زمینی انجام شد و قطعات تلقیح‌شده با آب مقطر سترون به‌عنوان شاهد استفاده شدند. بروز علائم پوسیدگی
- ۱۷ نرم پس از ۲۴ ساعت بررسی شد. (Schaad et al., 2001). همچنین برای بیماری‌زایی *P. atrosepticum*،
- ۱۸ سوسپانسیون باکتری به طوقه گیاهان سالم سیب‌زمینی تزریق و بروز علائم ساق‌سیاه پس از پنج روز ارزیابی شد. گیاهان
- ۱۹ تلقیح‌شده با آب مقطر سترون به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند (Hatami Gigloo et al., 2015). برای آزمون
- ۲۰ بیماری‌زایی جدایه ۱۲ از *Streptomyces* sp. و سایر جدایه‌های *Streptomyces* spp. پس از ضدعفونی سطحی
- ۲۱ غده‌های سیب‌زمینی، جدایه‌ها روی محل زخم تلقیح و پس از یک هفته ایجاد علائم جرب شامل نکروز و فرورفتگی در
- ۲۲ محل تلقیح بررسی شد. غده‌های تلقیح‌نشده به‌عنوان شاهد استفاده شدند (Ali Mohammadi, 2018).
- ۲۳

- ۱ **بررسی فعالیت ضدباکتریایی جدایه‌های *Streptomyces* در شرایط آزمایشگاه**
- ۲ فعالیت ضدباکتریایی جدایه‌های *Streptomyces* با استفاده از آزمون کشت متقاطع (Cross-streak)
- ۳ assay) بررسی شد. بدین منظور، هر یک از جدایه‌های غیربیماری‌زای *Streptomyces* به صورت خطی در
- ۴ مرکز پتری‌دیش حاوی محیط آگار مغذی کشت و به مدت پنج روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس انکوبه شدند.
- ۵ سپس جدایه‌های بیمارگر *P. carotovorum*، *P. atrosepticum*، *R. solanacearum* و *Streptomyces*
- ۶ sp. به صورت خطوط عمود بر خط کشت جدایه غیربیماری‌زای *Streptomyces* تلقیح شدند. پتری‌دیش به
- ۷ مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۸ درجه سلسیوس انکوبه شدند و فعالیت ضدباکتریایی بر اساس میزان ممانعت از
- ۸ رشد باکتری‌های بیمارگر در محل تقاطع خطوط کشت ارزیابی شد (Saravana Kumar et al., 2014).
- ۹ همچنین این آزمون با روش استفاده از کلروفرم انجام شد. به این صورت که جدایه‌های غیربیماری‌زای *Streptomyces*
- ۱۰ روی محیط آگار مغذی به صورت لکه‌ای کشت شدند و به مدت پنج روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس درون انکوباتور
- ۱۱ قرار گرفتند. سپس با پنبه‌ی سه بار سترون آغشته به الکل ۹۶ درصد از سطح محیط کشت پاک شد. سه قطره کلروفرم
- ۱۲ در قسمت داخلی درب پتری ریخته شد و به مدت ۱۵ دقیقه زیر هود نگهداری و در نهایت ۳۰ دقیقه هوادهی انجام شد.
- ۱۳ از کشت شبانه هر یک از جدایه‌های بیمارگر روی محیط آگار مغذی به صورت چمنی در هر پتری‌دیش کشت شد و به
- ۱۴ مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگهداری شدند. قطر هاله بازدارندگی از رشد جدایه‌های بیمارگر توسط
- ۱۵ جدایه‌های غیربیماری‌زای *Streptomyces* اندازه‌گیری و یادداشت شدند. در تیمار شاهد فاقد جدایه *Streptomyces* سه
- ۱۶ قطره کلروفرم روی قسمت داخلی درب پتری ریخته و هوادهی انجام شد و باکتری بیمارگر به صورت چمنی کشت شد
- ۱۷ (Khodakaramian & Zafari, 2010). برای هر تیمار، سه تکرار در نظر گرفته شد.
- ۱۸ **بررسی اثر ضدباکتریایی مایع کشت فیلتر شده جدایه‌های منتخب *Streptomyces***
- ۱۹ جدایه‌های منتخب *Streptomyces* در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۵۰ میلی‌لیتر محیط مایع نشاسته-کازئین
- ۲۰ (SC broth) کشت و به مدت ۱۴ روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس انکوبه شدند. سپس کشت‌ها سانتریفیوژ شده و فاز
- ۲۱ رویی (سوپرناتانت) جمع‌آوری و از فیلتر غشایی ۰/۲۲ میکرومتری عبور داده شد. به فاز رویی، اتیل استات با نسبت حجمی
- ۲۲ ۱:۱ افزوده شد و مخلوط حاصل به مدت دو ساعت در انکوباتور شیکردار با سرعت ۲۵۰ دور در دقیقه قرار گرفت. سپس
- ۲۳ فاز رویی جداسازی شده به گرمخانه با دمای ۷۰ تا ۸۰ درجه سلسیوس به مدت یک ساعت منتقل شد. محلول نهایی در

- ۱ دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شد. برای ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی متابولیت‌ها، سطح محیط آگار مغذی با کشت
- ۲ شبانه هر یک از باکتری‌های بیمارگر به‌طور چمنی تلقیح شد و سپس ۳۰ میکرولیتر از عصاره به‌صورت لکه‌ای روی سطح
- ۳ محیط کشت قرار داده شد. برای هر تیمار، سه تکرار در یک پتری‌دیش در نظر گرفته شد. پتری‌دیش‌ها به مدت ۲۴
- ۴ ساعت در دمای ۲۸ درجه سلسیوس انکوبه شدند و قطر هاله بازدارندگی اندازه‌گیری و ثبت شد. برای بررسی پایداری
- ۵ فعالیت ضدباکتریایی متابولیت‌ها در برابر باکتری‌های بیمارگر، این آزمون پس از هفت و ۱۴ روز تکرار و نتایج آن ثبت
- ۶ شد (Padilla-Gálvez et al., 2021).

۸ بررسی ویژگی‌های فنوتیپی جدایه‌های همستیز منتخب جنس *Streptomyces*

۹ تعیین نوع زنجیره اسپوری

- ۱۰ هر یک از جدایه‌های منتخب روی لام پوشش‌دار حاوی محیط کشت PDA به‌صورت لکه‌ای کشت شدند. پس از
- ۱۱ انکوباسیون در دمای ۲۸ درجه سلسیوس، تشکیل هیف‌های هوایی و زنجیره‌های اسپوری به‌صورت روزانه بررسی شد و
- ۱۲ پس از مشاهده ساختارهای اسپوری، شکل و نوع زنجیره‌های اسپوری با استفاده از میکروسکوپ نوری ارزیابی شدند
- ۱۳ (Shirling & Gottlieb, 1966).

۱۴ تعیین رنگ کلنی‌ها

- ۱۵ جدایه‌های منتخب *Streptomyces* به‌صورت کشت خطی روی محیط‌های آگار مغذی (NA) و عصاره مالت-مخمر
- ۱۶ آگار (YMEA) کشت شدند و در دمای 2 ± 28 درجه سلسیوس به مدت هفت روز انکوبه شدند. پس از رشد کامل
- ۱۷ کلنی‌ها، رنگ توده اسپور (spore mass) از روی لایه اسپور تشکیل‌شده روی میسلیم هوایی، رنگ میسلیم هوایی و
- ۱۸ رنگ میسلیم بستر بر اساس رنگ بخش‌های هوایی و نفوذ کلنی در محیط کشت به‌صورت چشمی ارزیابی شد (Shirling
- ۱۹ & Gottlieb, 1966).

۲۰ استفاده از منابع کربوهیدرات‌ها

- ۲۱ محیط پایه آیر (۱ گرم فسفات آمونیوم، ۰/۲ گرم سولفات منیزیم، ۰/۲ گرم کلروپتاس، ۰/۰۱۶ گرم برم تیمول بلو)
- ۲۲ در حجم نهایی ۱۰۰ میلی‌لیتر با اسیدیته ۷/۲ تهیه و سترون شد. مقدار ۰/۵-۰/۱ گرم از قندهای سوکروز، دی‌گلوکز و
- ۲۳ فروکتوز به ۵-۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و سپس بوسیله تندیالیزاسیون (جوشاندن به مدت ۲۵ دقیقه در سه روز

- ۱ متوالی) استریل و به محیط‌های پایه اضافه شدند. هر یک از محیط‌ها به چهار لوله آزمایش استریل منتقل شدند. لوله‌ها
- ۲ با یک لوپ از کشت تازه هر یک از جدایه‌های منتخب تلقیح شد و پس از یک ماه تغییر رنگ محیط کشت با شاهد منفی
- ۳ مقایسه و نتایج یادداشت شدند (Shirling & Gottlieb, 1966).

۴ شناسایی مولکولی جدایه‌های همستیز منتخب جنس *Streptomyces*

- ۵ استخراج DNA ژنومی جدایه‌های منتخب *Streptomyces* مطابق روش علی‌محمدی (۲۰۱۸) انجام شد.
- ۶ برای تکثیر ژن 16S rRNA از آغازگرهای (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') pA-F و
- ۷ (5'-AAGGAGGTGATCCAGCCGCA-3') pH*-R (Edwards *et al.*, 1989) تهیه شده از
- ۸ شرکت بیومجیک ژن استفاده شد. واکنش PCR در دستگاه Termal cycler (Bio-Rad T100 [™], Singapore) انجام شد و اجزای واکنش شامل یک میکرولیتر از آغازگرهای مستقیم و معکوس به غلظت
- ۱۰ پیکومول در هر میکرولیتر، سه میکرولیتر DNA ژنومی، ۷/۵ میکرولیتر آب مقطر سترون و ۱۲/۵
- ۱۱ میکرولیتر از PCR Master Mix شرکت سیناکلون ایران بود. در نمونه شاهد منفی تمام مواد واکنش
- ۱۲ به جز DNA ژنومی اضافه شد. برنامه دمایی PCR شامل واسرشته‌سازی اولیه در دمای ۹۴ درجه سلسیوس
- ۱۳ به مدت ۴ دقیقه، سپس ۳۵ چرخه شامل واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه،
- ۱۴ اتصال آغازگرها یا دورگه‌سازی در دمای ۶۱ درجه سلسیوس به مدت یک دقیقه و گسترش در دمای ۷۲
- ۱۵ درجه سلسیوس به مدت دو دقیقه بود. در پایان، مرحله گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به
- ۱۶ مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. برای بررسی محصولات PCR، ژل آگارز یک درصد در بافر TBE تهیه و پیش
- ۱۷ از جامد شدن، رنگ Safe stain به آن افزوده شد. سپس چهار میکرولیتر از هر محصول PCR در
- ۱۸ چاهک‌های ژل بارگذاری و الکتروفورز با ولتاژ ثابت ۸۰ ولت تا رسیدن رنگ ردیاب به حدود یک سانتی‌متری
- ۱۹ انتهای ژل انجام شد. در نهایت، باندهای DNA با استفاده از دستگاه Gel documentation Unitec
- ۲۰ EEC مشاهده و تصویربرداری شدند.

۲۱ توالی‌یابی محصولات PCR

- ۱ توالی یابی محصولات PCR به صورت دو طرفه توسط شرکت سینووه (شیراز، ایران) انجام شد. توالی‌های نوکلئوتیدی
- ۲ حاصل با نرم افزار BLAST با توالی‌های موجود در بانک ژن مقایسه شدند. درخت‌های فیلوژنتیکی با نرم افزار MEGA
- ۳ v. 6.06 ترسیم شد.

۴ آنالیز کروماتوگرافی گازی متابولیت‌های جدایه‌های منتخب *Streptomyces*

- ۵ آنالیز عصاره اتیل‌استاتی حاصل از کشت جدایه‌های منتخب در آزمایشگاه دانشکده شیمی دانشگاه زنجان با
- ۶ استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی همراه با طیف سنج جرمی شرکت Agilent (USA) مدل N۶۸۹۰ انجام
- ۷ شد که مجهز به ستون کروماتوگرافی HP-5, DB-23 به طول ۵۰ سانتی‌متر، عرض ۵۸ سانتی‌متر و عمق ۵۴
- ۸ سانتی‌متر و مجهز به سنسورهای روی بُرد است که به طور خودکار تغییرات دمای محیط و اختلاف فشار فشارسنج
- ۹ را جبران می‌کند. شناسایی ترکیبات موجود در عصاره بر اساس زمان بازداری (Retention time) و مقایسه
- ۱۰ طیف‌های جرمی هر پیک با طیف‌های موجود در کتابخانه استاندارد NIST انجام گرفت.

۱۱ مهار زیستی *P. carotovorum* با جدایه‌های منتخب *Streptomyces* در شرایط گلخانه

- ۱۲ با توجه به اینکه باکتری *P. carotovorum* با ایجاد پوسیدگی نرم یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید
- ۱۳ سیب‌زمینی در ایران است، کارایی مهار زیستی جدایه‌های منتخب در شرایط گلخانه علیه این بیمارگر ارزیابی شد.
- ۱۴ سوسپانسیونی از جدایه‌های منتخب و باکتری بیمارگر به غلظت $10^8 - 10^7$ سلول باکتری در هر میلی‌لیتر
- ۱۵ ($OD_{600nm}=0.1$) تهیه شد. غده‌های رقم مافونا سیب‌زمینی (رقم متداول در استان زنجان و حساس به پوسیدگی نرم)،
- ۱۶ یک روز قبل از کاشت به مدت ۳۰ دقیقه در سوسپانسیون جدایه‌های منتخب قرار گرفتند و در شرایط استریل به مدت
- ۱۷ ۲۴ ساعت نگهداری شدند. سپس هم‌زمان با کاشت، دو میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری بیمارگر در ناحیه اطراف
- ۱۸ غده‌ها و داخل خاک هر گلدان تلقیح شد. رشد گیاه تا مرحله چهار برگه بررسی شد. تیمارها در جدول ۱ ذکر
- ۱۹ شده‌اند. درصد وقوع آلودگی با بررسی تعداد جوانه‌های سبز شده و رشد یافته در مدت ۴۰ روز نسبت به کل
- ۲۰ جوانه‌ها در هر تیمار محاسبه شد (Zhang et al., 2020; Shahryari et al., 2005).

۲۱ جدول ۱- تلقیح غده‌های سیب‌زمینی با جدایه‌های همستیز منتخب *Streptomyces* spp. به صورت انفرادی و ترکیبی در حضور یا

۲۲ عدم حضور بیمارگر *Pectobacterium carotovorum*

۲۳ **Table 1-** Inoculation of potato tubers with selected antagonist *Streptomyces* spp. isolates, either individually or
۲۴ in combination, in the presence or absence of *Pectobacterium carotovorum*

Treatments with the pathogen	Treatments without the pathogen
<i>P. carotovorum</i> + <i>Streptomyces</i> sp. AEB 133	<i>Streptomyces</i> sp. AEB 133
<i>P. carotovorum</i> + <i>Streptomyces</i> sp. AEFB 88	<i>Streptomyces</i> sp. AEFB 88
<i>P. carotovorum</i> + <i>Streptomyces</i> sp. 7	<i>Streptomyces</i> sp. 7

<i>P. carotovorum</i> + <i>Streptomyces</i> sp. AEB 133+	<i>Streptomyces</i> sp. AEB 133+ <i>Streptomyces</i> sp. AEFB 88+
<i>Streptomyces</i> sp. AEFB 88+ <i>Streptomyces</i> sp. 7	<i>Streptomyces</i> sp. 7
<i>P. carotovorum</i> + <i>Streptomyces</i> sp. AEB 133+	<i>Streptomyces</i> sp. AEB 133+ <i>Streptomyces</i> sp. AEFB 88
<i>Streptomyces</i> sp. AEFB 88	
<i>P. carotovorum</i> + <i>Streptomyces</i> sp. AEB 133+	<i>Streptomyces</i> sp. AEB 133+ <i>Streptomyces</i> sp. 7
<i>Streptomyces</i> sp. 7	
<i>P. carotovorum</i> + <i>Streptomyces</i> sp. AEFB 88+	<i>Streptomyces</i> sp. AEFB 88+ <i>Streptomyces</i> sp. 7
<i>Streptomyces</i> sp. 7	
Positive control (<i>Pectobacterium carotovorum</i>)	Negative control (Sterile distilled water)

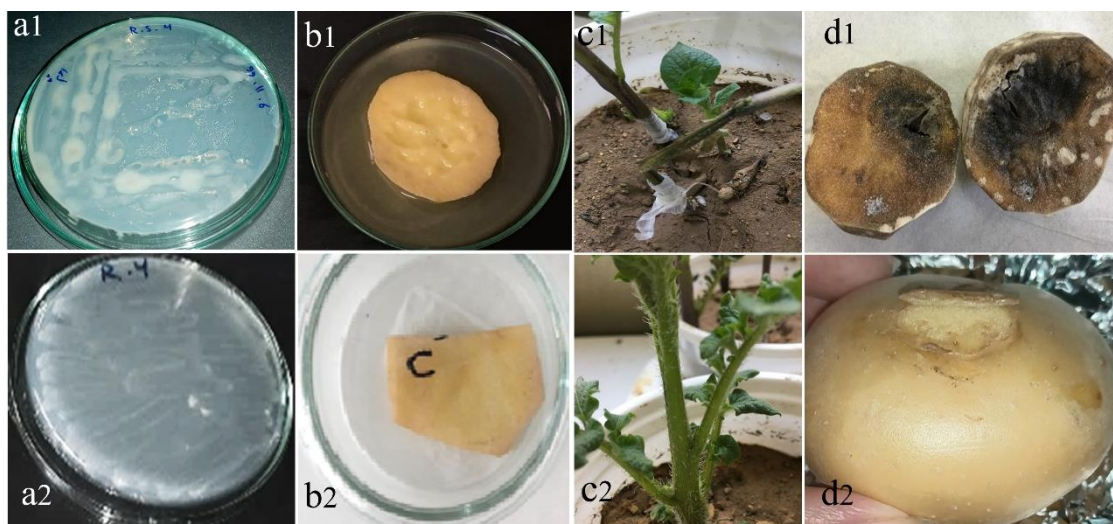
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمون‌های شرایط آزمایشگاهی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور جدایه همستیز و بیمارگر در سه تکرار اجرا شد. تجزیه واریانس داده‌های حاصل با آزمون تحلیل واریانس دو طرفه (Two-way ANOVA) انجام شد. آزمون شرایط گلخانه‌ای در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تجزیه واریانس داده‌های حاصل با آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) انجام شد. مقایسه میانگین‌ها بین گروه‌های تیماری با آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال خطای یک صورت گرفت. بررسی‌های آماری با نرم افزار SAS Ver 9.4 انجام شد. نمودارها با نرم افزار Microsoft Excel 2013 رسم شدند.

نتایج و بحث

بررسی و تأیید حفظ ویژگی بیماری‌زایی جدایه‌های باکتریایی

به‌منظور بررسی حفظ ویژگی بیماری‌زایی جدایه‌های کلکسیونی، آزمون‌های تأییدی روی هر یک از جدایه‌های بیمارگر انجام شد. جدایه ۴ از *R. solanacearum* روی محیط SPA کلنی‌های سفید، سیال و لعاب‌دار تشکیل داد، در حالی که در محیط آگار مغذی این ویژگی مشاهده نشد. جدایه ۸ از *P. carotovorum* پس از تلقیح روی برش‌های سیب‌زمینی طی ۲۴ ساعت موجب ایجاد پوسیدگی نرم شد. جدایه SCR از *P. atrosepticum* پس از تزریق در محل طوقه، لکه‌های آب‌سوخته ظاهر شد و به‌تدریج لکه‌های سیاه رنگ روی ساقه گیاه سیب‌زمینی گسترش یافت ولی گیاه شاهد علائمی نشان نداد. همچنین گونه *Streptomyces* sp. روی غده‌های سیب‌زمینی علائم جرب شامل نکروز و فرورفتگی ایجاد نمود، در حالی که ۳۰ جدایه منتخب *Streptomyces* فاقد هرگونه علائم بیماری‌زایی بودند (شکل ۱). نتایج حاصل نشان داد که جدایه‌های کلکسیونی ویژگی بیماری‌زایی داشتند و علائم ایجادشده با گزارش‌های پیشین مطابقت داشت (Hatami Gigloo et al., 2015, Irandoust et al., 2008; Brenner et al., 2005).



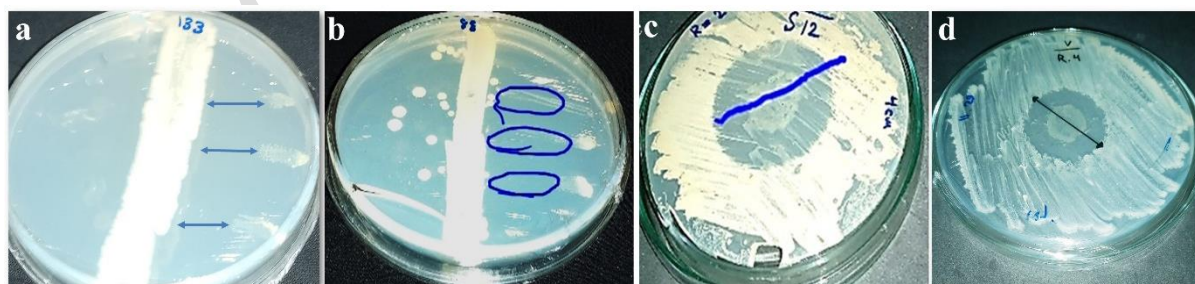
شکل ۱- آزمون بیماری‌زایی گونه‌های باکتریایی. (a) در گونه *Ralstonia solanacearum* تشکیل کلنی‌های سفید و سیال به همراه لعاب در محیط نشاسته، پپتون و آگار (a1) و عدم تشکیل لعاب روی محیط حاوی آگار مغذی به عنوان شاهد منفی (a2)؛ (b) ایجاد لهدگی روی برش سیب‌زمینی با تلقیح گونه *Pectobacterium carotovorum* (b1) و برش سیب‌زمینی بدون لهدگی تلقیح شده با آب مقطر سترون (b2)؛ (c) بروز پوسیدگی‌های سیاه رنگ روی ساقه هفت روز بعد از مایه‌زنی *Pectobacterium atrosepticum* (c1) عدم پوسیدگی در ساقه شاهد تلقیح شده با آب مقطر سترون (c2)؛ (d) ایجاد نکروز روی بافت سیب‌زمینی یک هفته بعد از تلقیح *Streptomyces* sp. (d1) و عدم نکروز روی بافت سیب‌زمینی در شاهد تلقیح شده با آب مقطر سترون (d2).

Figure 1- Pathogenicity tests of bacterial species. (a) *Ralstonia solanacearum* producing white, fluidal and mucoid colonies on starch peptone agar (a1), while no slime production was observed on nutrient agar medium as the negative control (a2); (b) Maceration on potato slices inoculated with *Pectobacterium carotovorum* (b1), compared to potato slices inoculated with sterile distilled water as the negative control (b2); (c) Development of black rot symptoms on stems seven days after inoculation with *Pectobacterium atrosepticum* (c1), while no symptoms were observed on stems inoculated with sterile distilled water as the negative control (c2); (d) Necrosis on potato tissue one week after inoculation with *Streptomyces* sp. (d1), compared to the negative control tissue inoculated with sterile distilled water (d2)

فعالیت ضدباکتریایی جدایه‌های غیر بیماری‌زای *Streptomyces* spp. در شرایط آزمایشگاه

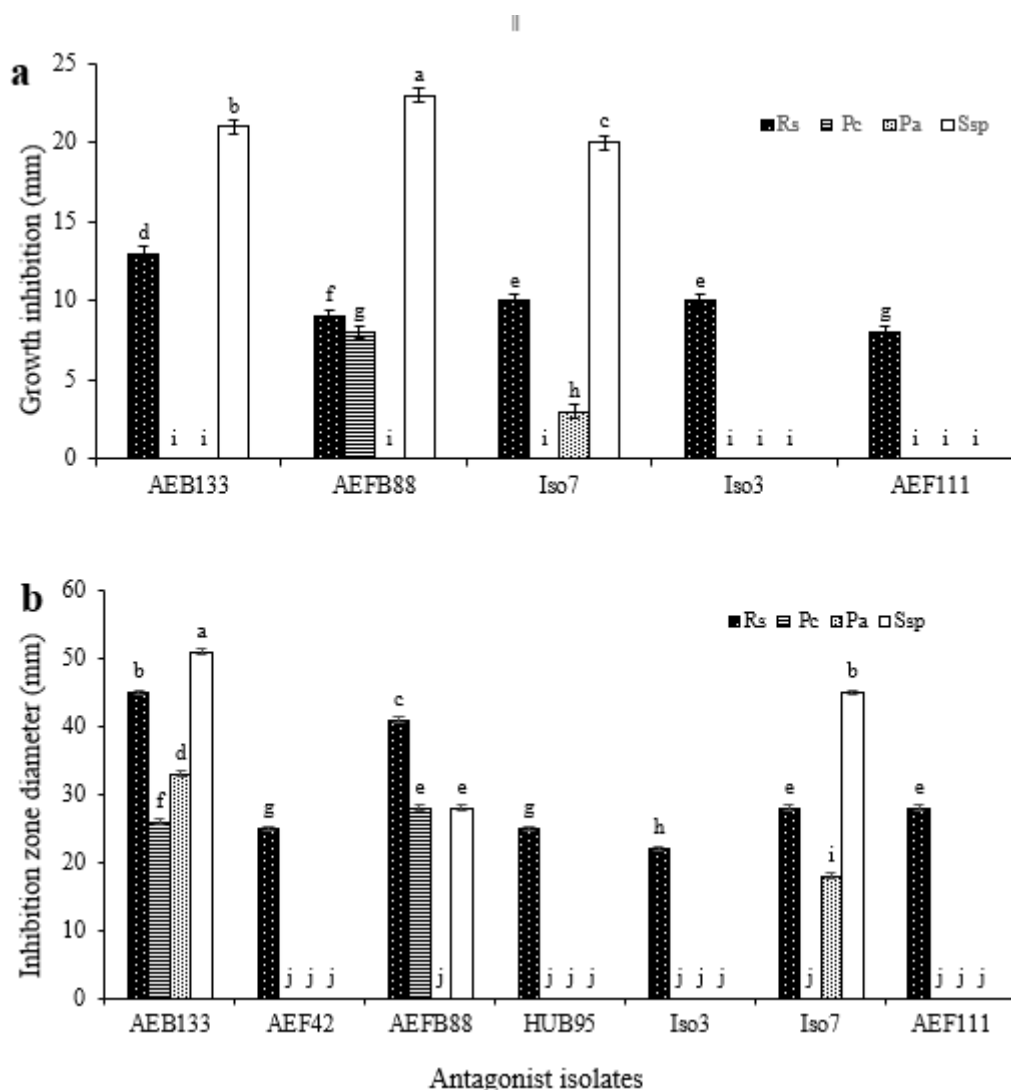
در آزمون خط متقاطع (شکل ۲a-b)، پنج جدایه باکتری *Streptomyces* (AEF111 و 3، 7، AEFB88، AEB133) با ایجاد هاله بازدارندگی بیش از پنج میلی‌متر، به عنوان عوامل کنترلی بالقوه شناسایی شدند. همه جدایه‌های مذکور توانایی بازدارندگی از رشد باکتری بیمارگر *R. solanacearum* را نشان دادند؛ اما در گونه بیمارگر *P. carotovorum* فقط جدایه AEFB88 اثر مهارکنندگی داشت. در مورد گونه بیمارگر *P. atrosepticum*، جدایه 7 ممانعت از رشد نشان داد و جدایه‌های 7، AEB133 و AEFB88 برای رشد بیمارگر *Streptomyces* sp. بازدارنده بودند. تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که اثرات ضدباکتریایی جدایه‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند ($P < 0.01$). مقایسه میانگین میزان بازدارندگی از رشد بیمارگرها توسط جدایه‌های *Streptomyces* spp. در شکل ۳a ارائه شده

- ۱ است. بیش‌ترین عدم رشد برای جدایه منتخب AEFB 88 در مقابل بیمارگر *Streptomyces* sp. به اندازه ۲۲/۶
- ۲ میلی‌متر و کمترین عدم رشد برای جدایه منتخب 7 مقابل بیمارگر *P. atrosepticum* به اندازه سه میلی‌متر بود
- ۳ در روش استفاده از کلروفرم (شکل ۲c-d)، هفت جدایه از *Streptomyces* spp. با قطر هاله بازدارندگی بیش از ۱۰
- ۴ میلی‌متر، به‌عنوان عوامل کنترل‌ی بالقوه شناسایی شدند. تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات ضدباکتریایی جدایه‌ها
- ۵ در سطح احتمال آماری یک درصد معنی‌دار بودند ($P < 0.01$). جدایه‌های AEB133، AE42، AEFB88، HUB95،
- ۶ AEF111، 7 و 3 مانع رشد *R. solanacearum* شدند، درحالی‌که جدایه‌های ۱۳۳ و ۸۸ رشد *P. carotovorum* را
- ۷ متوقف کردند. همچنین، جدایه‌های 7 و AEB133 از رشد *P. atrosepticum* جلوگیری کردند و جدایه‌های 7،
- ۸ AEFB88 و AEB133 مانع رشد *Streptomyces* sp. شدند. بیش‌ترین سطح بازدارندگی از رشد برای جدایه
- ۹ AEB133 در مقابل بیمارگر *Streptomyces* sp. به اندازه ۵۱ میلی‌متر و کمترین سطح بازدارندگی از
- ۱۰ رشد برای جدایه 7 مقابل بیمارگر *P. atrosepticum* به اندازه ۱۸/۳۳ میلی‌متر بود. مقایسه میانگین قطر
- ۱۱ هاله بازدارندگی از رشد بیمارگرها توسط جدایه‌های *Streptomyces* spp. با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد در
- ۱۲ شکل ۳b ارائه شده است.
- ۱۳ باتوجه به عملکرد بالقوه سه جدایه AEB133، AEFB88 و 7 در سنجش‌های ابتدایی مقابل بیمارگرها، در ادامه پژوهش
- ۱۴ تنها این سه جدایه برای بررسی و مطالعه استفاده شدند.
- ۱۵ کاربرد اکتینوباکترها به ویژه جدایه‌هایی از *Streptomyces* spp. در مهار زیستی بسیاری از بیمارگرها گزارش
- ۱۶ شده است (Junwei et al., 2019; Padilla-Galvez et al., 2021). در پژوهشی جدایه 3MKA از باکتری
- ۱۷ *Streptomyces rochei* در شرایط آزمایشگاه فعالیت ضدباکتریایی مقابل همه بیمارگرهای آزمایش شده شامل
- ۱۸ *R. solanacearum*، *P. carotovorum* و *P. atrosepticum* نشان داده است (Elhalag et al., 2025).



- ۱۹
- ۲۰ **شکل ۲- فعالیت ضدباکتریایی جدایه AEB133 در مقابل *Ralstonia solanacearum* (a) و جدایه AEFB 88 در مقابل**
- ۲۱ **بیمارگر *Streptomyces* sp. (b) در آزمون خط متقاطع؛ فعالیت ضدباکتریایی جدایه AEB133 در مقابل *Streptomyces* sp. (c) و جدایه 7 مقابل**
- ۲۲ ***R. solanacearum* (d) در روش استفاده از کلروفرم.**

Figure 2-: Antibacterial activity of AEB133 isolate against *Ralstonia solanacearum* (a) and AEFB88 isolate against *Streptomyces* sp. (b) in the cross streak assay; antibacterial activity of AEB133 isolate against *Streptomyces* sp. (c) and 7 isolate against *R. solanacearum* (d) using the chloroform method.



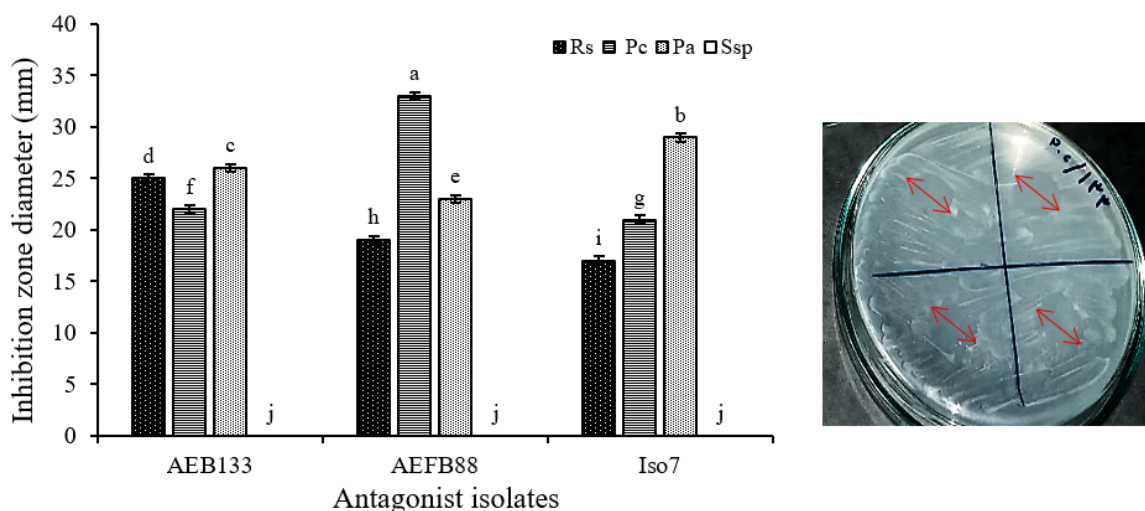
شکل ۳- بازدارندگی از رشد توسط جدایه‌های منتخب *Streptomyces* spp. در آزمون خط متقاطع (a) و آزمون کلروفرم (b) روی بیمارگرهای *Ralstonia solanacearum* (Rs), *Pectobacterium carotovorum* (Pc), *Pectobacterium atrosepticum* (Pa) و *Streptomyces* sp. (Ssp) میانگین‌های هر ستون که دارای حروف مشابه هستند، مطابق با آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P \leq 0.01$) تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

Figure 3- Inhibition of growth produced by selected *Streptomyces* spp. against the phytopathogens *Ralstonia solanacearum* (Rs), *Pectobacterium carotovorum* (Pc), *Pectobacterium atrosepticum* (Pa), and *Streptomyces* sp. (Ssp) in the cross streak assay (a) and chloroform assay (b). Means in each column followed by the same letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test ($P \leq 0.01$).

بررسی اثر ضدباکتریایی مایع کشت فیلتر شده جدایه‌های منتخب *Streptomyces* spp.

- ۱ بعد از استخراج متابولیت‌های ثانویه جدایه‌های منتخب AEB133، AEFB88 و 7 و استفاده آن‌ها علیه چهار باکتری
- ۲ بیمارگر، قطر هاله بازدارندگی از رشد اندازه‌گیری شد (شکل ۴). آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که تیمارها در سطح
- ۳ احتمال یک درصد معنی دار بودند ($P < 0.05$). بیشترین میزان بازدارندگی رشد در مایع کشت فیلتر شده، مربوط به جدایه
- ۴ AEFB88 در برابر *P. carotovorum* به اندازه ۳۲/۶۶ میلی‌متر و کمترین میزان بازدارندگی مربوط به جدایه 7 در برابر
- ۵ *R. solanacearum* به اندازه ۱۶/۶۶ میلی‌متر بود. همچنین در مورد *Streptomyces* sp. بازدارندگی از رشد مشاهده
- ۶ نشد.
- ۷ برای بررسی پایداری متابولیت‌های استخراج‌شده، آزمون فعالیت ضدباکتریایی جدایه‌های منتخب پس از ۷ و ۱۴ روز تکرار
- ۸ شد. بازدارندگی از رشد بیمارگرهای *P. carotovorum* و *P. atrosepticum* توسط متابولیت‌های جدایه‌های
- ۹ AEFB88، AEB133 و 7 مشاهده شد، اما در مورد *R. solanacearum* بازدارندگی از رشد مشاهده نشد. نکته قابل
- ۱۰ توجه این است که جدایه ۷ روی محیط کشت آگار مغذی در هر دو روش بررسی شده در مقابل *P. carotovorum*
- ۱۱ فعالیت ضدباکتریایی نداشت. در حالیکه متابولیت‌های استخراج شده از کشت این جدایه در محیط مایع نشاسته-کازئین،
- ۱۲ فعالیت ضدباکتریایی در مقابل این گونه نشان دادند. این تفاوت احتمالاً به دلیل تولید و تجمع بیشتر متابولیت‌های ثانویه
- ۱۳ در محیط کشت مایع طی دوره انکوباسیون ۱۴ روزه است و مشخص می‌شود با تغییر ترکیبات محیط کشت و حتی روش
- ۱۴ بررسی فعالیت ضدباکتریایی ممکن است نتایج متفاوتی حاصل شود. در پژوهشی اثر منابع مختلف کربنی و نیتروژنی
- ۱۵ محیط کشت بر تولید متابولیت‌های ضد میکروبی باکتری *Lactiplantibacillus plantarum* در برابر بیمارگرهای
- ۱۶ گیاهی مانند *P. carotovorum*، *Xanthomonas vesicatoria*، *Pseudomonas syringae* و *Clavibacter*
- ۱۷ *michiganensis* بررسی شد. نتایج نشان داد که بیشترین هاله بازدارندگی از رشد بیمارگرها در شرایطی است که محیط
- ۱۸ کشت حاوی سه درصد سوکروز به عنوان منبع اصلی کربن و یک درصد تیروزین به عنوان منبع اصلی نیتروژن باشد. اما
- ۱۹ استفاده از گالاکتوز یا آرابینوز به عنوان منبع کربنی باعث کاهش یا حتی عدم فعالیت ضد میکروبی این باکتری مقابل
- ۲۰ باکتری‌های بیمارگر شد (Vasyliuk et al., 2025).
- ۲۱ متابولیت‌های ثانویه هفت جدایه *Streptomyces* از منابع دریایی (دریای سرخ) علیه بیمارگرهای *R. solanacearum*
- ۲۲ *P. atrosepticum* و *P. carotovorum* به روش انتشار دیسک در پژوهش‌های قبلی گزارش شده است (Hassan
- ۲۳ et al., 2022). همچنین متابولیت‌های موجود در مایع کشت فیلتر شده گونه‌های *Streptomyces griseorubens* و
- ۲۴ *Streptomyces cavourensis* برای تیمار اندام‌های هوایی گیاه خیار استفاده شده است که مقاومت سیستمیک اکتسابی

- ۱ القا شده باعث کاهش شدت بیماری ناشی از ویروس موزائیک خیار شد (Shafie et al., 2016). پیش تیمار غده‌های
- ۲ سیب‌زمینی با متابولیت‌های حاصل از جدایه 3MKA از باکتری *S. rochei* به‌طور موثری از پوسیدگی نرم ناشی از *P.*
- ۳ *atrosepticum* و *P. carotovorum* جلوگیری کرد. همچنین کاربرد در خاک و بخش‌های هوایی نیز شدت پژمردگی
- ۴ ناشی از *R. solanacearum* را تا ۹۱ درصد کاهش داد (Elhalag et al., 2025).



شکل ۴- قطر هاله‌های بازدارندگی از رشد بیمارگرهای *Ralstonia solanacearum* (Rs)، *Pectobacterium carotovorum* (Pc) و *Pectobacterium atrosepticum* (Pa) در اثر مایع کشت فیلترشده جدایه‌های منتخب *Streptomyces* spp.؛ فعالیت ضدباکتریایی مایع کشت فیلترشده جدایه AEB133 در مقابل بیمارگر *P. carotovorum* روی محیط کشت آگار مغذی. میانگین‌های هر ستون که دارای حروف مشابه هستند، مطابق با آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P \leq 0.01$) تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.

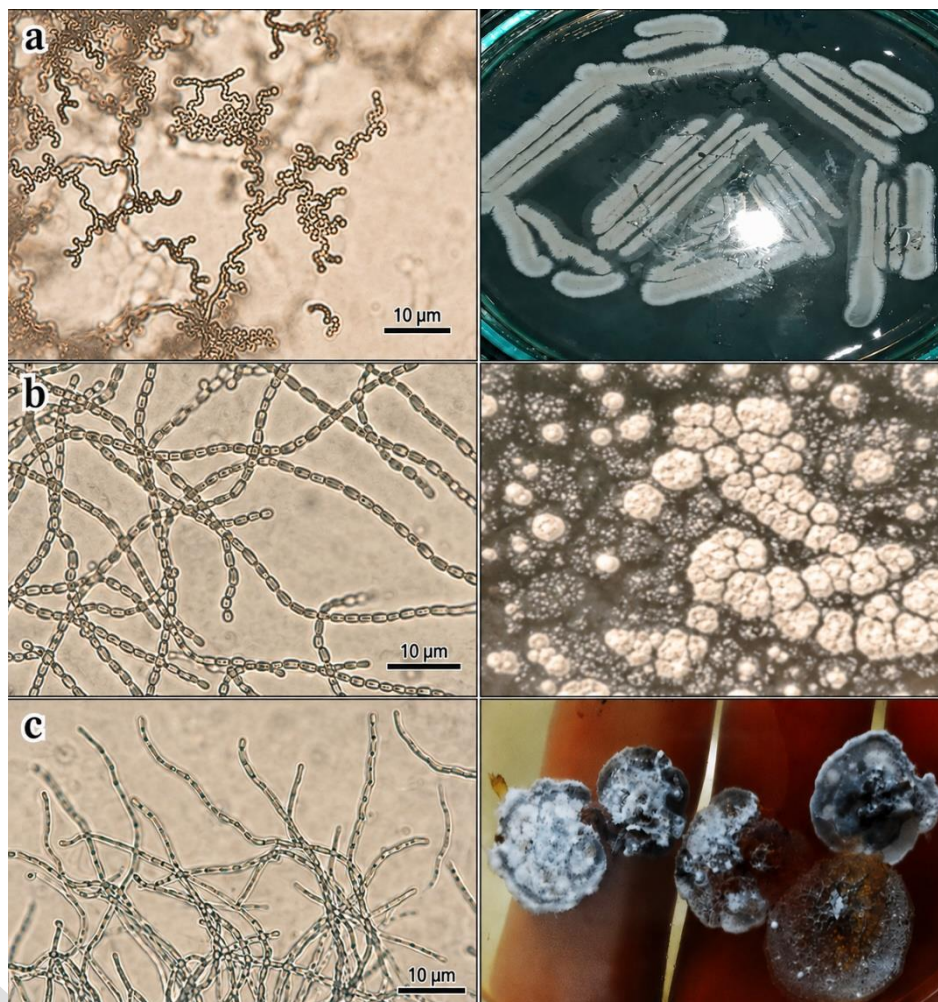
Figure 3- Inhibition zone diameter of *Ralstonia solanacearum* (Rs), *Pectobacterium carotovorum* (Pc) and *Pectobacterium atrosepticum* (Pa) affected by the culture filtrates of selected antagonistic *Streptomyces* spp.; Antibacterial activity of culture filtrate of AEB133 isolate against *P. carotovorum* on nutrient agar medium, Means in each column followed by the same letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test ($P \leq 0.01$).

بررسی ویژگی‌های مورفولوژیکی و استفاده از چند منبع کربنی جدایه‌های منتخب

- ۱۸ نوع زنجیره اسپوری، رنگ کلنی در محیط کشت‌های آگار مغذی و عصاره مالت مخمر آگار و تولید اسید از منابع
- ۱۹ مختلف کربنی در جدایه‌های منتخب با خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی باکتری‌های شناسایی شده سایر
- ۲۰ منابع تطابق داشت (Goodfellow et al., 2012).

- ۲۱ ویژگی‌های مورفولوژیکی در محیط آگار مغذی برای جدایه ۷ شامل، زنجیره اسپوری مارپیچی، رنگ بستر مات، رنگ
- ۲۲ میسیلیوم سفید مات و رنگ اسپور زیتونی و تولید اسید از سوکروز و دی گلوکز بود. جدایه ۱۳۳، زنجیره اسپوری خمیده،

- ۱ رنگ بستر مات، رنگ میسیلیوم سفید تا کرم و رنگ اسپور زرد داشت و همچنین قادر به تولید اسید از دی گلوکز و
- ۲ فروکتوز بود. در جدایه ۸۸، زنجیره اسپوری مستقیم، رنگ بستر قهوه‌ای، رنگ میسیلیوم سفید مات و رنگ اسپور خاکستری
- ۳ بود و تولید اسید از دی گلوکز و فروکتوز مشاهده شد (شکل ۵).

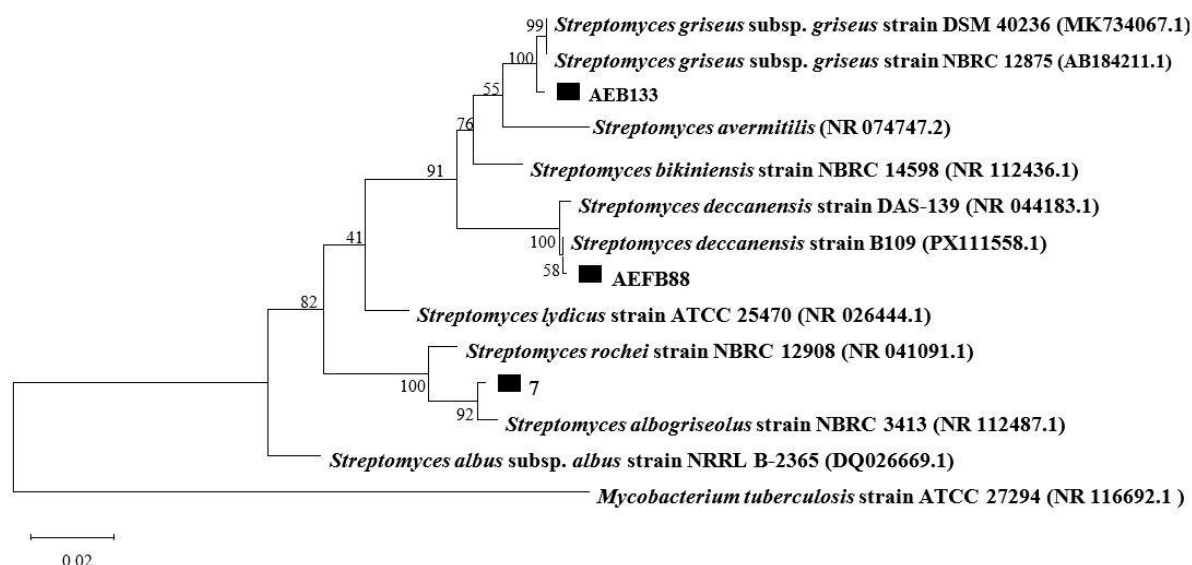


شکل ۵- تصاویر میکروسکوپی زنجیره‌های اسپوری و رنگ کلنی *Streptomyces* spp. همستیز منتخب روی محیط کشت آگار مغذی. (a) زنجیره اسپوری مارپیچی و رنگ کلنی سفید مات جدایه 7، (b) زنجیره اسپوری خمیده و رنگ کلنی سفید تا کرم جدایه AEB133، (c) زنجیره اسپوری صاف و رنگ کلنی سفید مات جدایه AEFB88

Figure 5- Microscopic images of spore chains and colony colour of selected antagonistic *Streptomyces* spp. on nutrient agar medium (a) spiral spore chain and opaque white colony of isolate 7; (b) flexuose spore chain and white to cream-colored colony of isolate AEB133; (c) straight spore chain and opaque white colony of isolate AEFB88.

شناسایی مولکولی و ارتباط فیلوژنتیکی جدایه‌های همستیز منتخب *Streptomyces* spp.

- ۱ در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز برای تکثیر ژن 16S rRNA جدایه‌های AEB133، AEFB88 و ۷، باندی با اندازه تقریبی
- ۲ ۱۵۰۰ جفت‌باز بدست آمد. مقایسه توالی‌های نوکلئوتیدی این ژن با توالی‌های موجود در بانک ژن (NCBI) با استفاده
- ۳ از برنامه BLAST نشان داد که جدایه‌های AEB133، 7 و AEFB88 به ترتیب با گونه‌های *Streptomyces*
- ۴ *Streptomyces* و *Streptomyces albogriseus* strain 173770، *griseus* strain Z-L-22
- ۵ *deccanensis* strain HBUM82870، ۹۹/۷۹ و ۹۹/۹۳ و ۱۰۰ درصد شباهت دارند.
- ۶ در ترسیم درخت فیلوژنتیکی از توالی نوکلئوتیدی ژن 16S rRNA جدایه‌های منتخب و استرین‌های تیپ (Type
- ۷ strains) متعلق به گونه‌های مختلف جنس *Streptomyces* استفاده شده است تا جایگاه فیلوژنتیکی جدایه‌ها با
- ۸ گونه‌های استاندارد مقایسه شود. درخت فیلوژنتیکی نشان داد که جدایه AEFB88 با *S. deccanensis* strain B109،
- ۹ جدایه AEB133 با *S. griseus* subsp. *griseus* strain NBRC 12875 و DSM 40236 و جدایه ۷ با *S.*
- ۱۰ *albogriseolus* strain NBRC 3413 در یک کلاد قرار گرفتند. بر این اساس، با توجه به جایگاه فیلوژنتیکی جدایه
- ۱۱ ۷ در درخت ترسیم شده، این جدایه به‌عنوان *S. albogriseolus* معرفی شد و توالی نوکلئوتیدی ژن 16S rRNA آن
- ۱۲ با شماره دسترسی ON955845 در بانک ژن ثبت شد. همچنین، توالی ژن 16S rRNA جدایه‌های AEB133 و
- ۱۳ AEFB88 نیز به‌ترتیب با شماره‌های دسترسی ON955873 و ON955908 در بانک ژن ثبت شدند. با توجه به
- ۱۴ اینکه ژن 16S rRNA به‌تنهایی قدرت تفکیک کافی برای شناسایی قطعی گونه در جنس *Streptomyces* را ندارد
- ۱۵ و مقادیر حمایت شاخه‌ها (Bootstrap) در درخت فیلوژنتیکی نیز برای برخی جدایه‌ها پایین بود، جدایه‌ها در این پژوهش
- ۱۶ در سطح جنس (*Streptomyces* sp.) معرفی شدند. درخت فیلوژنتیکی نیز جایگاه این جدایه‌ها را در میان استرین‌های
- ۱۷ تیپ گونه‌های مختلف جنس *Streptomyces* نشان می‌دهد (شکل ۶).



شکل ۶-درخت فیلوژنتیکی بر اساس بخشی از توالی نوکلئوتیدی ژن 16S rRNA که موقعیت تاکسونومی جدایه‌های AEB133، 7 و AEFB88 را نشان می‌دهد. این درخت با استفاده از روش Maximum Likelihood و با ۱۰۰۰ تکرار Bootstrap رسم شده است. باکتری *Mycobacterium tuberculosis* به عنوان برون گروه (outgroup) در نظر گرفته شده است.

Figure 6- Phylogenetic tree based on partial 16S rRNA gene sequences showing the taxonomic position of isolates AEB133, 7, and AEFB88. The tree was constructed using the Maximum Likelihood method with 1000 bootstrap replicates. *Mycobacterium tuberculosis* is used as the outgroup.

آنالیز کروماتوگرافی گازی متابولیت جدایه‌های منتخب *Streptomyces* spp.

بر اساس نتایج حاصل از آنالیز کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) و مقایسه طیف‌های جرمی با کتابخانه NIST، در متابولیت‌های استخراج‌شده از جدایه ۷ ترکیبات تترامتوکسی استایرن و تری‌فلورومتیل‌بنزیل‌آمین، در جدایه AEFB88 مشتقات بنزن دی‌کربوکسیلیک اسید و در جدایه AEB133 ترکیبات بنزوتیوفن استامید و ایزوتیواوره شناسایی شدند. لازم به ذکر است که شناسایی این ترکیبات بر اساس بیشترین میزان تطابق طیف‌های جرمی با کتابخانه NIST انجام شده است و تأیید قطعی ساختار آن‌ها مستلزم استفاده از استانداردهای مرجع و روش‌های مکمل نظیر LC-MS/MS و طیف‌سنجی تشدید مغناطیسی هسته (NMR) است (Sebak et al., 2025). گونه‌های مختلف *Streptomyces* به عنوان یکی از مهم‌ترین منابع تولید متابولیت‌های ثانویه زیست‌فعال شناخته می‌شوند و مطالعات متعدد نشان داده‌اند که عصاره‌های اتیل‌استاتی این باکتری‌ها حاوی ترکیباتی با فعالیت ضدباکتریایی و ضدقارچی هستند (Mazumdar et al., 2023; David et al., 2022). همچنین حضور مشتقات بنزن دی‌کربوکسیلیک اسید در متابولیت‌های ثانویه تولیدشده توسط گونه‌های مختلف *Streptomyces* با استفاده از آنالیز GC-MS گزارش شده است و این ترکیبات در کنار سایر متابولیت‌ها می‌توانند در فعالیت ضد میکروبی نقش داشته باشند (Elsharkawy et al., 2022).

۱. در پژوهش حاضر نسبت دادن فعالیت ضدباکتریایی متابولیت‌های استخراج‌شده به یک ترکیب منفرد تنها بر
۲. اساس نتایج GC-MS امکان‌پذیر نیست. بنابراین، برای تعیین نقش دقیق هر یک از ترکیبات شناسایی‌شده، لازم است
۳. این ترکیبات خالص‌سازی شده و فعالیت زیستی آن‌ها به‌صورت جداگانه ارزیابی شود (Sebak et al., 2025).
۴. **مهار زیستی *P. carotovorum* با جدایه‌های منتخب *Streptomyces* در شرایط گلخانه**
۵. توانایی جدایه‌های منتخب در کنترل زیستی یکی از مهم‌ترین بیمارگرهای سیب‌زمینی در شرایطی مشابه به مزرعه در
۶. گلخانه بررسی شد. در شرایط مزرعه معمولاً غده‌های بذری سالم در خاک‌های آلوده کشت می‌شوند. باکتری *P.*
۷. *carotovorum* با استقرار روی سطح غده‌ها از طریق زخم‌ها، عدسک‌ها یا استولون به غده‌ها وارد می‌شود و باعث
۸. پوسیدگی در داخل غده و از بین رفتن جوانه‌ها می‌شود (Charkowski et al., 2020). در این پژوهش باکتری بیمارگر
۹. به خاک و عوامل بیوکنترل باکتریایی به غده‌ها اضافه شدند. اثر جدایه‌های منتخب بر حفظ جوانه‌زنی غده‌های تلقیح‌شده
۱۰. و رشد گیاهچه در حضور بیمارگر با بررسی تیمارهای مختلف در مدت ۴۰ روز ارزیابی شد و درصد گیاهان سالم در پایان
۱۱. آزمایش تعیین شدند (Zhang et al., 2020; Shahryari et al., 2005). نتایج نشان داد که در تیمار شاهد مثبت
۱۲. (تلقیح‌شده با بیمارگر)، بیشترین کاهش جوانه‌زنی مشاهده شد و وقوع بیماری با گذشت زمان ۱۰۰ درصد شد. در حالیکه
۱۳. در سایر تیمارها وقوع بیماری ۲۲ تا ۴۴ درصد متغیر بود. بهترین عملکرد کاهش وقوع بیماری برای جدایه AEB133
۱۴. با ۲۲ درصد آلودگی مشاهده شد و این جدایه فعالیت بیوکنترلی بالقوه‌ای از خود نشان داد (جدول ۲). این نتایج نشان می‌
۱۵. دهد که بین فعالیت ضدباکتریایی مشاهده‌شده در شرایط آزمایشگاه و کارایی جدایه‌های *Streptomyces* در شرایط
۱۶. گلخانه در بسیاری از موارد همبستگی وجود دارد، هر چند میزان این همبستگی به نوع روش غربالگری جدایه‌های مفید
۱۷. در شرایط آزمایشگاه و همچنین روش‌های بررسی گلخانه‌ای بستگی دارد. جدایه AEB133 در شرایط آزمایشگاه در
۱۸. روش آزمون خط متقاطع در برابر این بیمارگر فعالیت ضدباکتریایی نداشت. در حالیکه در روش استفاده از
۱۹. کلروفرم یکی از جدایه‌های موثر در برابر این بیمارگر بود. میکروارگانیسیم‌های فعال در ناحیه ریشه گزینه
۲۰. مناسبی برای مهار زیستی بیمارگرهای خاکزاد هستند. چون ریشه اولین خط دفاعی گیاه مقابل این بیمارگرها
۲۱. است. در واقع بیمارگرها قبل از هجوم و ایجاد بیماری با باکتری‌های آنتاگونیست در ناحیه ریشه در تقابل
۲۲. هستند (Nguyen & Ranamukhaarachchi 2010). مطالعات نشان داده‌اند که *Streptomyces* sp.
۲۳. OE7 علایم پوسیدگی نرم ناشی از بیمارگرهای *P. carotovorum* و *P. atrosepticum* را روی برش‌های
۲۴. سیب‌زمینی به میزان ۶۵-۹۴ درصد کاهش داد (Baz et al., 2012). همچنین *Streptomyces* sp. NEAU-

۱ HV9 که در شرایط آزمایشگاه فعالیت ضدباکتریایی قوی مقابل بیمارگر *R. solanacearum* نشان داد، در شرایط
 ۲ گلخانه از وقوع بیماری روی گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی جلوگیری کرد. این اثر حفاظتی ناشی از تولید اکتینومایسین
 ۳ D توسط این جدایه گزارش شده است (Ling et al., 2020). گونه اندوفیت *Streptomyces* sp. TP199 جدا
 ۴ شده از گیاه سیب‌زمینی، لهیدگی بافت غده‌های سیب‌زمینی ناشی از بیمارگرهای *P. carotovorum* subsp.
 ۵ *P. atrosepticum* و *carotovorum* را کاهش داد که این توانایی را به فعالیت سرکوب سیستم حد نصاب احساس
 ۶ (quorum quenching) نسبت دادند (Padilla-Galvez et al., 2021).

۷ **جدول ۲-** اثر جدایه‌های منتخب *Streptomyces* spp. بر وقوع بیماری پوسیدگی نرم در گیاه سیب‌زمینی در تیمارهای مختلف در شرایط گلخانه

۸ **Table 2-** Effect of selected *Streptomyces* spp. on potato soft rot incidence under different treatments in
 ۹ greenhouse conditions

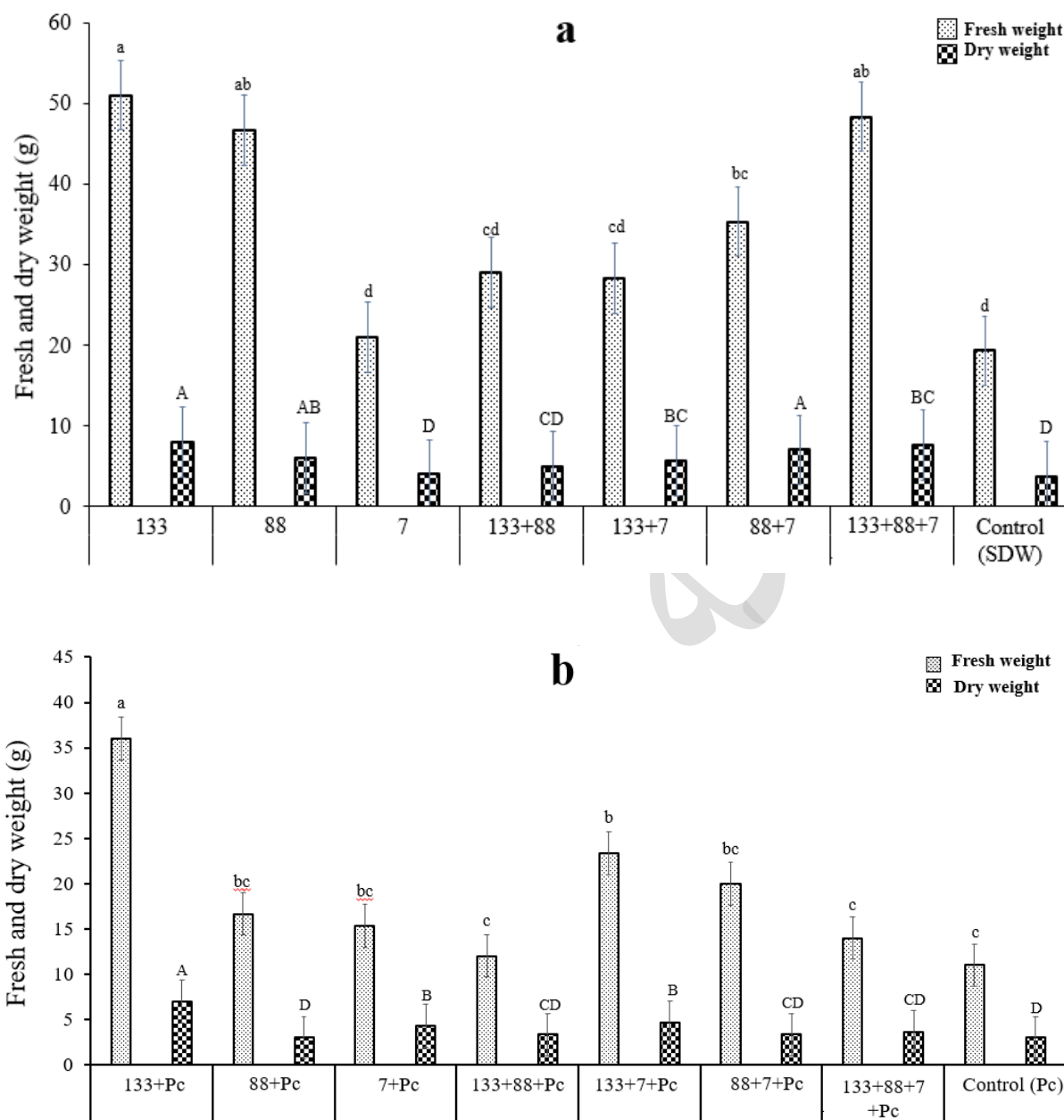
Treatments	Disease incidence (%)	Treatments	Disease incidence (%)
<i>P. carotovorum</i> + <i>Streptomyces</i> sp. AEB 133+	44	<i>P. carotovorum</i> + <i>Streptomyces</i> sp. AEB 133	22
<i>Streptomyces</i> sp. AEFB 88+ <i>Streptomyces</i> sp. 7			
<i>P. carotovorum</i> + <i>Streptomyces</i> sp. AEB 133+	44	<i>P. carotovorum</i> + <i>Streptomyces</i> sp. AEFB 88	33
<i>Streptomyces</i> sp. AEFB 88			
<i>P. carotovorum</i> + <i>Streptomyces</i> sp. AEB 133+	33	<i>P. carotovorum</i> + <i>Streptomyces</i> sp. 7	44
<i>Streptomyces</i> sp. 7			
<i>P. carotovorum</i> + <i>Streptomyces</i> sp. AEFB 88+	44	Positive control	55
<i>Streptomyces</i> sp. 7			

۱۰
 ۱۱
 ۱۲ **تأثیر جدایه‌های منتخب *Streptomyces* spp. بر وزن تر و خشک گیاه سیب‌زمینی در حضور یا عدم**

۱۳ **حضور بیمارگر *P. carotovorum***

۱۴ نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان می‌دهد که تلقیح غده‌ها با جدایه‌های منتخب *Streptomyces* spp. تأثیر معنی
 ۱۵ داری در سطح احتمال یک درصد بر وزن تر و خشک گیاه سیب‌زمینی داشته است ($P < 0.01$). مقایسه میانگین‌ها نشان
 ۱۶ داد که کمترین مقدار وزن تر و خشک مربوط به تیمار شاهد منفی (تلقیح‌شده با آب مقطر سترون) بود و تلقیح غده‌ها با
 ۱۷ جدایه‌های منتخب موجب افزایش وزن تر و خشک گیاه سیب‌زمینی شد. به‌طوری‌که بیشترین وزن تر و خشک به‌ترتیب
 ۱۸ با میانگین‌های ۵۱ و ۸ گرم در تیمار AEB133 مشاهده شد (شکل ۷a). افزون بر این، تیمار جدایه AEFB 88 و تیمار
 ۱۹ ترکیبی AEB133+AEFB 88+7 نیز باعث افزایش وزن تر نسبت به شاهد شدند و با تیمار جدایه AEB133 تفاوت
 ۲۰ معنی‌داری نداشتند. همچنین تیمار جدایه AEFB 88 و تیمار ترکیبی AEFB 88+7 نیز باعث افزایش وزن خشک

- ۱ نسبت به شاهد شدند و با تیمار جدایه AEB133 تفاوت معنی‌داری نداشتند. بنابراین، این جدایه‌ها به‌عنوان باکتری‌های
- ۲ محرک رشد گیاه عمل کرده و موجب افزایش معنی‌دار شاخص‌های رشدی مورد بررسی در گیاه سیب‌زمینی شدند.
- ۳ همچنین نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تلقیح غده‌ها با جدایه‌های منتخب در حضور باکتری *P.*
- ۴ *carotovorum* تاثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر وزن تر و خشک سیب‌زمینی داشته است ($P < 0.05$).
- ۵ مقاسه میانگین وزن‌های تر و خشک تیمارها نشان داد که کمترین وزن مربوط به تیمار شاهد (تلقیح شده فقط با باکتری
- ۶ بیمارگر) و بیشترین وزن تر و خشک به ترتیب با میانگین‌های ۳۶ و ۷ گرم مربوط به تیمار AEB133 بود. همچنین
- ۷ تیمار جدایه 7 و تیمار ترکیبی AEB133+7 باعث افزایش وزن خشک گیاه نسبت به شاهد شدند ولی با تیمار AEB133
- ۸ تفاوت معنی‌دار داشتند (شکل ۷b). نتایج مشابهی نیز در مطالعات دیگر گزارش شده است، به‌طوری‌که تیمار غده‌های
- ۹ سیب‌زمینی با گونه‌های مختلف *Streptomyces* در شرایط گلخانه علاوه بر کنترل بیماری جرب معمولی، موجب افزایش
- ۱۰ معنی‌دار وزن تر، وزن خشک و سایر شاخص‌های رشدی گیاه سیب‌زمینی شد (Zhang et al., 2020). در تحقیقات
- ۱۱ پیشین گزارش شده است که *Streptomyces* sp. NEAU-HV9 در شرایط گلخانه از وقوع بیماری روی
- ۱۲ گیاهچه‌های گوجه‌فرنگی جلوگیری کرد و موجب افزایش رشد گیاهان گوجه‌فرنگی شد (Ling et al., 2020).
- ۱۳ همچنین متابولیت‌های تولیدشده توسط *S. rochei* ضمن کاهش شدت پوسیدگی نرم در غده‌های سیب‌زمینی، موجب
- ۱۴ بهبود رشد گیاه و افزایش سلامت غده‌ها شدند (Elhalag et al., 2025). گونه‌های مختلف *Streptomyces* از مهم‌ترین
- ۱۵ باکتری‌های محرک رشد گیاه محسوب می‌شوند و این اثر را از طریق تولید ترکیبات تنظیم‌کننده رشد مانند ایندول-۳-
- ۱۶ استیک اسید، تولید سیدروفور، افزایش فراهمی عناصر غذایی، تولید آنزیم‌های خارج‌سلولی و متابولیت‌های ضد میکروبی
- ۱۷ اعمال می‌کنند. این ویژگی‌ها علاوه بر کاهش فشار بیمارگر، موجب بهبود رشد ریشه، افزایش جذب عناصر غذایی و در
- ۱۸ نهایت افزایش زیست‌توده گیاه می‌شوند (Al-Quwaie, 2024). بنابراین، افزایش وزن تر و خشک گیاهان در تیمارهای
- ۱۹ حاوی جدایه‌های منتخب در این پژوهش احتمالاً حاصل اثر توأم ویژگی‌های محرک رشد و فعالیت مهار زیستی این
- ۲۰ جدایه‌ها بوده است.



شکل ۷- اثر جدایه‌های آنتاگونیست منتخب *Streptomyces* spp. بر وزن تر و خشک گیاه سیب‌زمینی در خاک سترون (a) و در خاک آلوده به *Pectobacterium carotovorum* (b). میانگین‌های هر ستون که دارای حروف مشابه هستند، مطابق با آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P \leq 0.01$) تفاوت معنی‌داری با هم ندارند. شاهد در a: گیاهان تلقیح‌شده فقط با آب مقطر سترون، شاهد در b: گیاهان تلقیح‌شده فقط با باکتری بیمارگر. ۱۳۳: *Streptomyces* sp. AEB133؛ ۸۸: *Streptomyces* sp. AEFB88؛ ۷: *Streptomyces* sp. 7

Figure 7. Effect of selected antagonist *Streptomyces* spp. on the fresh and dry weight of potato plants grown in sterile soil (a) and in soil infested with *Pectobacterium carotovorum* (b). Means in each column followed by the same letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test ($P \leq 0.01$).

Control (a): plants inoculated with only sterile distilled water (SDW), and control (b): plants inoculated with only the pathogen. 133: *Streptomyces* sp. AEB133; 88: *Streptomyces* sp. AEFB88; 7: *Streptomyces* sp. 7

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که از میان جدایه‌های غیربیماریزای *Streptomyces* spp. جدایه *Streptomyces* sp. AEB133 در مقایسه با سایر جدایه‌ها بیشترین فعالیت ضدباکتریایی را علیه بیمارگرهای باکتریایی مهم سیب‌زمینی در شرایط آزمایشگاهی نشان داد. همچنین این جدایه در شرایط گلخانه نیز موجب کاهش وقوع بیماری پوسیدگی نرم ناشی از *P. carotovorum* و افزایش معنی‌دار وزن تر و خشک گیاه سیب‌زمینی نسبت به شاهد آلوده شد. نتایج نشان داد که فعالیت ضدباکتریایی در شرایط آزمایشگاهی با عملکرد جدایه‌ها در شرایط گلخانه‌ای همخوانی دارد. این یافته نشان می‌دهد که استفاده از آزمون‌های آزمایشگاهی می‌تواند روش مناسبی برای غربالگری و انتخاب اولیه جدایه‌های موثر *Streptomyces* جهت انجام ارزیابی‌های تکمیلی در شرایط گلخانه و مزرعه باشد.

با توجه به اینکه شناسایی مولکولی جدایه‌های منتخب در این پژوهش تنها بر اساس توالی نوکلئوتیدی ژن 16S rRNA انجام شد، بنابراین تعیین گونه با قطعیت امکان‌پذیر نیست. لذا، انجام مطالعات تکمیلی شامل شناسایی دقیق جدایه‌ها با سایر نشانگرهای مولکولی، بررسی سازوکارهای مهار زیستی و محرک رشدی، شناسایی و تأیید ترکیبات فعال زیستی و همچنین ارزیابی کارایی این جدایه‌ها در شرایط مزرعه، برای معرفی آن‌ها به عنوان عوامل مهار زیستی در مدیریت بیماری‌های باکتریایی سیب‌زمینی ضروری است.

References

- Algeblawi, A., & Adam, F. (2013). Biological control of *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* by *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* and *Bacillus thuringiensis*. *International Journal of Chemical, Environmental and Biological Sciences*, 1(5), 770–774.
- Ali Mohammadi, A. (2018). Determination of phenotypic characteristics and some pathogenicity profiles of potato scab-causing species in Hamadan province (Master's thesis, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran). (In Persian with English abstract).
- Al-Quwaie, D.A. (2024). The role of *Streptomyces* species in controlling plant diseases: A comprehensive review. *Australasian Plant Pathology*, 53(1), 1–14.
- Ahmadi, A., & Khakvar, R. (2016). Molecular identification of *Streptomyces scabies* causal agent of potato common scab in East Azerbaijan and Kurdistan provinces. *Journal of Microbial Biology*, 5(19), 159–170. <https://doi.org/10.22108/bjm.2016.20998> (In Persian with English abstract).

- Arias, C.A., & Murray, B.E. (2008). Emergence and management of drug-resistant enterococcal infection. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, 6(5), 637–655. <https://doi.org/10.1586/14787210.6.5.637>
- Atallah, Z. K., Hayes, R. J., & Subbarao, K. V. (2011). Fifteen years of Verticillium wilt of lettuce in America's salad bowl: A tale of immigration, subjugation and abatement. *Plant Disease*, 95(7), 784–792. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-10-0850>
- Baz, M., Lahbabi, D., Samri, S., Val, F., Hamelin, G., Madore, I., & Barakate, M. (2012). Control of potato soft rot caused by *Pectobacterium carotovorum* and *Pectobacterium atrosepticum* by Moroccan actinobacteria isolates. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(1), 303–311. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0812-5>
- Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T., Garrity, G.M., Boone, D.R., De Vos, P., Goodfellow, M., Rainey, F.A., & Schleifer, K.H. (2005). *Bergey's manual of systematic bacteriology* (2nd ed.). Springer.
- Charkowski, A., Sharma, K., Parker, M.L., Secor, G.A., & Elphinstone, J. (2020). Bacterial diseases of potato. In: Campos, H., & Ortiz, O. (eds) *The Potato Crop*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5_10
- Donald, L., Pipite, A., Subramani, R., Owen, J., Keyzers, R.A. & Taufu, T. (2022). *Streptomyces*: Still the biggest producer of new natural secondary metabolites, a current perspective. *Microbiology Research*, 13(3), 418-465.
- Dhanasekaran, D., Rajakumar, G., Sivamani, P., Selvamani, S., Panneerselvam, A., & Thajuddin, N. (2005). Screening of salt pan actinomycetes for antibacterial agents. *The Internet Journal of Microbiology*, 1(2), 1–4.
- Edwards, U., Rogall, T., Blocker, H., Emde, M., & Bottger, E.C. (1989). Isolation and direct complete nucleotide determination of entire genes. Characterization of a gene coding for 16S ribosomal RNA. *Nucleic Acids Research*, 17(19), 7843–7853. <https://doi.org/10.1093/nar/17.19.7843>
- Elhalag, K.M., Hassan, M.G., Hamed, A.A., Elawady, M.E., Hassan, A., & El-Maaty, S.A.A. (2025). Antibacterial efficacy of *Streptomyces rochei* metabolites against key bacterial diseases of potato. *Indian Phytopathology*, 78(3), 713–724.
- Eshghpour, E., Shahryari, F. & Ghasem, A. (2018). The phenotypic and genotypic characteristics of causal agents of potato bacterial soft rot in Ardabil province of Iran. *Journal of Crop Protection*, 7 (1): 109-119.
- Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.J., Trujillo, M.E., Suzuki, K., Ludwig, W., & Whitman, W. B. (Eds.). (2012). *Bergey's manual of systematic bacteriology* (2nd ed., Vol. 5). Springer.
- Hassan, A.F., Hassan, M.G., Abo-Elmaaty, S.A., El-Awady, M.E., & Elhalag, K.M. (2022). Screening of antibacterial activity of different secondary metabolites from *Streptomyces* against potato brown rot and soft rot diseases. *Benha Journal of Applied Sciences*, 7(4), 163–167.

- Hatami Gigloo, R., Khodaygan, P., & Baghaee Ravari, S. (2015). Identification of the causal agent of blackleg and soft rot of potato in Ardabil province. *Journal of Plant Protection*, 29(2), 273–282. <https://doi.org/10.22067/jpp.v29i2.36307> (In Persian with English abstract).
- Hussain, A., & Christopher, J.G. (2023). Antibacterial activities of secondary metabolites derived from *Streptomyces* sp. VITGV38 (MCC4869) against selected uropathogens. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 17(4), 2443–2452. <https://doi.org/10.22207/JPAM.17.4.42>
- Irandoost, H., Niknam, G., Ghasemi, A., Taghavi, S., & Torabi, E. (2008). Study on phenotypic and protein diversity of *Ralstonia solanacearum* strains in Iran. *Journal of Water and Soil Science*, 12(43), 183–192. (In Persian with English abstract).
- Junwei, Z., Liuan, H., Mingying, Y., Peng, C., Dongmei, L., Xiawei, G., Yongqiang, L., Xiangjing, W., & Wensheng, X. (2019). Characterization of *Streptomyces sporangiiformans* sp. nov., a novel soil actinomycete with antibacterial activity against *Ralstonia solanacearum*. *Microorganisms*, 7(9), 360. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090360>
- Khodakaramian, G.H., & Zafari, D. (2010). Identification of fluorescent pseudomonads isolated from potato rhizosphere and assessment of their antagonistic activity towards *Pectobacterium carotovorum* under field conditions. *Applied Entomology and Phytopathology*, 77(2), 1–18. (In Persian with English abstract).
- Liu, S., Wang, Y., Wang, J., Yan, L., Lai, X., & Yu, D. (2026). Recent advances and future perspectives in the integrated management of potato bacterial wilt. *European Potato Journal*, 69(3). <https://doi.org/10.1007/s11540-026-10021-2>
- Ling, L., Han, X., Li, X., Zhang, X., Wang, H., Zhang, L., & Xiang, W. (2020). A *Streptomyces* sp. NEAU-HV9: Isolation, identification, and potential as a biocontrol agent against *Ralstonia solanacearum* of tomato plants. *Microorganisms*, 8(3), 351. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030351>
- Nguyen, M.T., & Ranamukhaarachchi, S.L. (2010). Soil-borne antagonists for biological control of bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* in tomato and pepper. *Journal of Plant Pathology*, 92(2), 395–406.
- Padilla-Galvez, N., Luengo-Urbe, P., Mancilla, S., Maurin, A., Torres, C., Ruiz, P., France, A., Acuña, I., & Urrutia, H. (2021). Antagonistic activity of endophytic actinobacteria from native potatoes against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and *Pectobacterium atrosepticum*. *BMC Microbiology*, 21, 335. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02393-x>
- Saravana Kumar, P., Duraipandiyan, V., Ignacimuthu, S., & Harikrishnan, R. (2014). Isolation, screening and partial purification of antimicrobial antibiotics from soil *Streptomyces* sp. SCA 7. *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences*, 30(9), 435–446. <https://doi.org/10.1016/j.kjms.2014.05.006>

- Shafie, R.M., Hamed, A., & El-Sharkawy, H.H. (2016). Inducing systemic resistance against Cucumber mosaic virus using *Streptomyces* spp. *Egyptian Journal of Phytopathology*, 44(1), 127–142. ١ ٢ ٣
- Shirling, E.B., & Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 16(3), 313–340. ٤ ٥ ٦
<https://doi.org/10.1099/00207713-16-3-313>
- Elsharkawy, M.M., Abd El-Hameed, I.H., El-Garhy, H.A.S., & El-Metwally, M.A. (2022). Efficacy of antifungal substances of three *Streptomyces* spp. against different plant pathogenic fungi. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 32, 130. <https://doi.org/10.1186/s41938-022-00612-9> ٧ ٨ ٩ ١٠ ١١
- Sagar, V., Sharma, S., & Chakrabarti, S.K. (2022). advances and approaches in mitigating bacterial diseases of potato. In: Chakrabarti, S.K., Sharma, S., Shah, M.A. (eds) Sustainable Management of Potato Pests and Diseases. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-7695-6_6 ١٢ ١٣ ١٤ ١٥
- Schaad, N.W., Jones, J.B., & Chun, W. (2001). Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Third Ed. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA. 373pp. ١٦ ١٧ ١٨
- Sebak, M., Azmy, A.F., Mohamed, G., Talha, Y., Molham, F. (2025). Streptomycetes as a promising source of antimicrobial compounds: A GC-MS-based dereplication study. *Microbial Pathogenesis*, 204:107531. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2025.107531> ١٩ ٢٠ ٢١
- Shahryari, F., Khodakaramian, G., & Heydari, A. (2005). Assessment of antagonistic activity of *Pseudomonas fluorescens* biovars toward *Pectobacterium carotovorum* subsp. *atrosepticum*. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 8(4), 201–211. ٢٢ ٢٣ ٢٤ ٢٥
- David, M.L.R., Innasimuthu, G.M., Rajaram, S. K., & Nooruddin, T. (2022). An endophytic *Streptomyces* sp. DARP-7 isolated from coastal lichen and enhancement of its antibacterial metabolite production using response surface methodology. *South African Journal of Botany*, 151, 636–648. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.10.022> ٢٦ ٢٧ ٢٨ ٢٩ ٣٠
- Mazumdar, R., Dutta, P.P., Saikia, J., Borah, J.C., & Thakur, D. (2023). *Streptomyces* sp. strain PBR11, a forest-derived soil Actinomycetia with antimicrobial potential. *Microbiology Spectrum*, 11(2):e03489-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.03489-22> ٣١ ٣٢ ٣٣ ٣٤ ٣٥
- Vasyliuk, O., Garmasheva, I., Skrotskyi, S., Khomenko, L., Hretskyi, I., & Senchylo, N. (2025). The influence of the conditions of cultivation of lactic acid bacteria on their antagonistic activity against some plant pathogenic bacteria. *Plant Direct*, 9(9), e70101. <https://doi.org/10.1002/pld3.70101>. ٣٦ ٣٧ ٣٨ ٣٩ ٤٠
- Zhang, X., Li, C., Hao, J.J., Li, Y., Li, D., Zhang, D., Xing, X., & Liang, Y. (2020). A novel *Streptomyces* sp. strain PBSH9 for controlling potato common scab caused by *Streptomyces galilaeus*. *Plant Disease*, 104(10), 2716–2724. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-19-1469-RE> ٤١ ٤٢ ٤٣ ٤٤ ٤٥ ٤٦ ٤٧