نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۴، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۹، ص ۴۴۴-۴۳۷

Journal of Plant Protection
Vol. 24, No. 4, Winter 2011, p. 437-444

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

محمد سالاری[1*]- غلامحسین شهیدی بنجار[2]- بتول صادقی[3]- ناصر پنجه که[4]- محمدمهدی امینایی[5]- طوبی شاکری[6]

تاریخ دریافت:۸۸/۹/۲
تاریخ پذیرش:۸۹/۱۲/۱۱

چکیده

فعالیت۲۰۰ایزوله اکتینو میست بر علیه*Phytophthora parasitica* و *P. citrophthora* مورد ارزیابی قرار گرفت. در میان همه جدایه های اکتینومیست دو جدایه ۱۹ و۲۹ فعالیت بالای بیوکنترلی در روشهای دیسک-آگار ونشت دو طرفه در آگار از خود نشان دادند. نتایج نشان دادکه ماده مؤثر موجود در عصاره خام دو جدایه ۱۹ و۲۹درآب ومتانول محلول ولی درکلروفرم نامحلول است. بررسیهای گلخانه ای درقالب طرح آماری کاملا تصادفی وآزمون چند دامنه ای دانکن نشان دادکه اثر چهار تیمار پاتوژن، آنتاگونیست، پاتوژن به همراه آنتاگونیست وشاهد روی صفات ارتفاع بوته، وزن خشک ریشه، طول و عرض برگ در سطح ۰/۰۵اختلاف معنی داری دارند و در گروههای جداگانه ای قرارگرفتند. جدایه ۱۹برروی ارتفاع، وزن خشک و عرض برگ وجدایه ۲۹ برروی طول برگ به طور معنی داری بیشترین تاثیر را داشته اند. نتایج تحقیق نشان می دهد که کاربرد این دو جدایه به صورت تولید بیوقارچکشهای طبیعی مخلوط با خاک درگلخانه باعث کاهش ویا ممانعت ازاثرات مخرب بیمارگر می شود. فعالیت بیوکنترل جدایه هاعلیه بیمارگرهای موردبررسی در گلخانه موید فعالیت آنتاگونیستی دو جدایه درآزمایشگاه نیز می باشد.

واژه های کلیدی: گموز مرکبات، *Phytophthora parasitica* ، *P. citrophthor*، اکتینومیست، کنترل بیولوژیکی

مقدمه

اکتینومیستها باکتریهای گرم مثبت ساپروفیتیک هستند و به طور وسیعی مورد مطالعه قرار گرفته اند اکتینومیست ها (به ویژه استرپتومایسسها) معمولا 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، الکلها، آمینو اسیدها و ترکیبات آروماتیک که بوسیله آنزیمهای برون سلولی هیدرولیتیک تولید میشوند هستند همچنین استرپتومایسسها اهمیت طبی و صنعتی نیز دارند بدلیل اینکه آنها آنتی بیوتیک سنتز میکنند (۱۳،۱۲ و ۲۱).

در کشاورزی مدرن کاربرد آفت کشها هنوز یک روش موثر و کارآمد برای کنترل بیمارگرهای گیاهی است. بهر حال کاربرد مواد شیمیایی در کشاورزی به دلیل آلو دگی زیست محیطی و اثرات مخرب روی انواع مختلف ارگانیسمهای غیر هدف در حال کم رنگ شدن است. پتانسیل کاربرد میکروبها بر پایه عوامل بیوکنترل به عنوان جایگزینها و یا مکمل مواد شیمیایی در بسیاری از گزارشات اخیر آورده شده است (۲۶).

اکتینومیستها ویژگیهایی دارند که آنها را برای عوامل بیوکنترل بر علیه قارچهای خاکزاد بیمارگر گیاهی مفید می سازد. این ویژگیها شامل تولید انواع مختلف متابو لیتهای ثانویه و موادی که از لحاظ بیو لوژیکی 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،۶ و ۲۹).

برخی محققین گزارش کرده اند که در مطا لعات آزمایشگاهی نتایج رضایت بخشی از کاربرد اکتینو میستها بر علیه برخی از بیمارگرهای ریشه به دست آمده است. به عنوان مثال *Streptomyces sp. Strain* 5406 درچین برای حفاظت محصول پنبه بر علیه بیمارگرهای خاکزاد به مدت ۳۵ سال به کا ر رفته است (۲۸). نتایج حتی نشان میدهد که کاربرد اکتینومیستها بویژه

۱و۴-استادیاران گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
(*- نویسنده مسئول: (Email:Salari21m@yahoo.com
۲- استاد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۳و۶- دانشجویان سابق کارشناسی ارشد بیماری شناسی گیاهی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
۵- مربی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمان

استرپتومایسسها 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 ۲۰۰۴در 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 اکتینومیستهای جداشده از خاکهای باغات مرکبات استان کرمان بر علیه *P. citrophthor* و *P. parasitica* عامل گموز مرکبات صورت گرفته است.

مواد وروش ها

جداسازی قارچ های بیمار گر: برای جدا کردن قارچ درخت مرکبات که نشانه ای دال بر آلودگی به بیماری گموز بود به روش ارشادوآلجاندراویال 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 بااسکالپل استریل برش داده شدند. قطعات درتشتکهای محتوی محیط کشت PARPHمنتقل شده وبه مدت یک هفته درتاریکی نگهداری شدند. پرگنه های فیتوفتورا به روش نوک ریسه در روی محیط کشت CMA خالص سازی شدند (۱و ۴).

جدا سازی اکتینومیستها از خاک: به منظور جداسازی اکتینومیستها از خاک چندین نمونه خاک ازمناطق مختلف باغات مرکبات استان کرمان به طور تصادفی از عمق ۲۰-۱۰سانتی متری عمق ریشه درختان نمونه برداری شد (۱۴). نمونه ها درهوای آزاد درآزما یشگاه خشک شده و از الکهای ۰/۸ میلی متر در مش عبور داده شدند. از هر نمونه خاک خشک سوسپانسیون خاک تهیه و از هرکدام رقتهای پی در پی (تا رقتهای 10^{-6}) آماده شد. یک میلی لیتر از هرکدام از این رقتها با Casein Glycerin Agar(CGA) (اتو کلاو شده) در تشتک مخلوط و تشتک ها در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. از روز هفتم به بعدپرگنه 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 : گلیسیرین یا نشاسته : ۱۰ گرم، کازئین: ۰/۳گرم KNO_3 : ۲گرم، NaCl: ۲گرم، K_2HPO_4: ۲گرم، $MgSO_4.7H_2O$: ۰/۰۵گرم، $CaCO_3$: ۰/۰۲گرم، $FeSO_4.7H_2O$:۰/۰۱گرم و آگار:۱۸گرم در یک لیتر آب مقطر استریل می باشد (۲ و ۲۷).

غربال نهایی وآزمون زیست سنجی ضد قارچی به روش دیسک -آگار: هر جدایه اکتینومایست به صورت خطی روی محیط کشت CGA استریل شده و بعد از نگهداری شدن در دمای ۲۸درجه سانتی گراد به مدت ۶-۴روز ازکشت 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 اگار تازه قارچ بود انتقال داده شد.کنترلها شامل دیسک هایی ازCGA بود .تشتک ها در دمای ۲۶-۲۵ درجه سانتی گراد به مدت هفت روز نگهداری شده و فعالیت زیستی بوسیله اندازه گیری قطرمنطقه ممانعت کنندگی بررسی شد (۷و۱۸).

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 سانتریفوژ به مدت ۱۰دقیقه با دورتقریبی 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 ۲۴ساعت ، در دسیکاتور قرار داده و بعد از آن به هر لوله آزمایش، دی متیل سولفوکساید و متانول (۱/۱: v/v) اضافه کرده و آزمون زیستی را به روش چاهک علیه قارچ مذکور انجام گرفت (۳ و ۵).

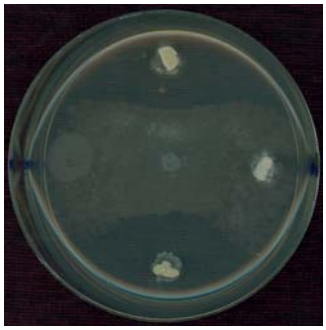
مطالعات گلخانه ای: آزمایش درسال۱۳۸۶درگلخانه جهاد کشاورزی استان کرمان اجراء گردید. بذور نارنج به مدت ۳ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۵% ضد عفونی سطحی شدوبه مدت پنج روز در آب مقطر استریل نگهداری شدند سپس در عمق مناسب در گلدانها(حاوی شن بادی شسته اتوکلا شده) کاشته شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۶ تکرار انجام گرفت و میانگین ها به روش دانکن مورد مقایسه قرار گرفت. ترتیب تیمارها بدین قرار بود: ۱-قارچ بیمارگر,۲- باکتری آنتاگونیست جدایه ۱۹, ۳-باکتری آنتاگونیست جدایه ۲۹, ۴-قارچ بیمارگر + باکتری آنتاگونیست جدایه۱۹, ۵- قارچ بیمارگر +باکتری آنتاگونیست جدایه۲۹ و۶ -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 نهالهااز خاک و شستن ریشه با آب، قسمتهای هوایی از ریشه ها جدا گشته وریشه ها داخل پاکتهای کاغذی که قبلاً وزن شده بودند، قرار داده شد. پاکتها به داخل انکوباتور بادمای۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت منتقل شدند، سپس پاکتها وزن گردید واز تفاضل وزن هر یک با وزن پاکت خالی مربوطه، وزن خشک ریشه محاسبه شد (۲۶).

روش محاسبات آماری وتجزیه 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 وبحث

غربالگری وزیست سنجی: در غربالگری برای متابولیتهای اکتینومیست خاکزی که فعالیت ضد قارچی بر علیه دو جدایه فیتوفتورا *P. parasitica* و *P. citrophthor* داشتند از ۲۰۰جدایه غربال شده جدایه های ۱۹ و۲۹ سطوح بالایی از فعالیت ضد قارچی داشتند. از میان ۲۰۰جدایه اکتینومیست جدا شده از خاک وریزوسفر درختان مرکبات در نهایت دو جدایه بعد از آزمون کلروفرم حداکثر فعالیت را علیه *P. parasitica* و *P. citrophthora* از خود نشان دادند. شهیدی بنجار وهمکاران در سال ۲۰۰۶ از میان ۱۳۰ جدایه اکتینومیست توانستند ۱۲جدایه را در غربال اولیه علیه گموز پسته (*P. dreschleri*) جداسازی کنند. سید وهمکاران درسال۲۰۰۳ از مجموع ۵۰۰ جدایه اکتینومیست ۱۰ جدایه فعال را علیه *P. capsici* از خاک وریزوسفرگیاه فلفل جداسازی نمودند (۲۳و۲۵).



شکل ۱- آزمون زیستی جدایه های ۱۱استرپتو مایسس ، شاهد و جدایه ۲۹ و جدایه ۱۹ (ازبالا، درجهت خلاف حرکت عقربه های ساعت) به روش دیسک-آگار علیه *P.parasitica*(عکس اصلی)

شکل۲- آزمون زیستی جدایه های ۲۹ استرپتو مایسس ، ۱۹ و شاهد و جدایه ۲۵ (ازبالا، درجهت موافق حرکت عقربه های ساعت) به روش دیسک-آگار علیه *P.citrophthora*(جدایه ۱۷غیر فعال است).(عکس اصلی)

حلالیت 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 درکلروفرم بدون اثر بوده و آزمون زیستی هاله ممانعت از رشد ایجاد نکرد. استنتاج می شود که ماده مؤثر موجود درعصاره خام دو جدایه ۲۹ و ۱۹ قطبی بوده و در حلال های آلی غیرقطبی نظیر کلروفرم حل نمیگردد. بنی اسدی و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که اکتینومیست جداشده ازخاکهای کرمان که برای کنترل بیولوژیکی *Sclerotinia sclerotiorum* به کاربردند درحلالهای قطبی(آب مقطر و متانول) محلول ولی درحلال های آلی غیر قطبی نظیر کلروفرم نامحلول است.همچنین عقیقی و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان دادندکه اکتینومیست جداشده از خاکهای کرمان که برای کنترل بیولوژیکی*Verticillium dahlia* به کار بردند در حلالهای قطبی محلول ولی در حلالهای غیر قطبی نامحلول است (۳و۵). بنابراین نتایج حاصل از این پژوهش با تحقیقات مزبور مشابهت دارد.

شاخص های رشد وعلایم حاصل از تیمارها:

مقایسه میانگین اثرتیمارهای مختلف روی صفات ارتفاع بوته، وزن خشک کل گیاه، وزن خشک ریشه، وزن خشک شاخه و برگ در (نمودار۱و۲) آمده است، جدایه ۱۹درمقایسه با سایر تیمارها با بالاترین میانگین بیشترین اثررا روی کلیه صفات به غیر از طول برگ داشته است. نتایج تجزیه واریانس ومقایسه میانگین در جداول ۱ و ۲ و نمودار ۱ آمده است. جدایه ۲۹ درمقایسه با سایر تیمارها با بالاترین میانگین بیشترین اثررا روی طول برگ داشته است .

سلامت کامل بوته های سالم درگلدانهای شاهد، زردی، پژمردگی برگها ،پوسیدگی ریشه وخشک شدن نهالهایی که با *P. parasitica* و *P. citrophthora* تلقیح شده بودند، وضعیت رشد بهتر نهالهای تلقیح شده باجدایه ۱۹نسبت به شاهد، عدم مشاهده علایم بیماری در نهالهای تلقیح شده *P. citrophthora*+جدایه ۱۹ *P.parasitica*, *P.* +۲۹ جدایه۱۹, *P.parasitica* + *citrophthora*+جدایه ۲۹ رشد کمی بیشتر و متراکم تر ریشه در گلدانهای تلقیح شده با جدایه ۱۹و ۲۹ در مقایسه با رشد ریشه در گلدانهای شاهد و رشد کمی بیشتر و متراکم تر ریشه در گلدانهای تلقیح شده با*P. parasitica* +جدایه۱۹ , جدایه ۲۹ + *P.* *parasitica* و *P. citrophthora*+جدایه ۲۹ در مقایسه با رشد ریشه در نهالهای تلقیح شده با *P. parasitica* و *P. citrophthora*ازنتایج حاصله است. میشرا وهمکاران در سال ۱۹۸۷ گزارش کردند که عصاره خالص چند گونه اکتینومیست خاکزی باعث تحریک رشد گیاه و افزایش وزن خشک درپنبه،سویا، کدوییان، گوجه فرنگی وسورگوم درگلخانه می شود (۱۹). از سوی دیگر تارابیلی وهمکاران در سال۱۹۹۶ تاثیریک جدایه اکتینومیست رابه صورت

همراه با *P .cinnamomi* وبه تنهایی روی گیاه *Banksia grandis* در گلخانه آزمایش کردند وچنین نتیجه گرفتند که جدایه اکتینومیست باعث ا فزایش رشد ریشه و وزن جوانه ها شده است (۸). فیلونو ولوکوود در سال ۱۹۸۵نشان دادند که *Actinoplants sp.* باعث کاهش پوسیدگی ریشه سویا با عامل *P .megasperma* وا فزایش وزن ریشه وجوانه سویا می شود(۱۰).همچنین هان وهمکاران در سال ۲۰۰۸گزارش 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 واسپرمین باعث افزایش رشد در گیاه لوبیا می شود واز سوی دیگر بیان داشتند که تلقیح خاک با *Streptomyces griseolutes* باعث افزایش سطوح پوترسکین، اسپرمیدین واسپرمین 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 تیمارشاهد و بیمارگر اثر افزایشی در رشد رویشی گیاه داشتند وهردو باعث کاهش ویا 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 قراردارند را کاهش نمی دهد و فعالیت بیماری زایی این بیمارگرها مستقل از کنترل بیولوژیکی جدایه های اکتینومیست است وچنین استنباط می شود که اکتینومیستهای تحریک کننده رشد گیاه در اطراف ریزوسفر بیشتر از سایر نقا ط دیگر با بیمارگرها در رقا بت هستند و مقاومت ا لقایی در گیا هانی که با اکتینومیست تلقیح شده‌اند افزایش یابد (۹). همچنین افزایش رشد گیاه بوسیله جدایه های اکتینومیست میتواند در نتیجه فعالیت های مستقیم ویا غیر مستقیم زیادی باشد و به دلیل آن است که فعالیت مستقیم جدایه های به کاربرده شده دررشد گیاه می توانند ساختن موادغذایی ،تولید تنظیم کننده های رشد در گیاه ویا در ریزوسفررا ازطریق القا به میکروارگانیسم ها تحریک کنند و یا اثرات غیر مستقیم وابسته به تولید متابولیت هایی مانند آنتی بیوتیک ها، پلی آمینها ، اندول اسید استیک وجیبرلیک اسید باشد که باعث افزایش رشد گیاه از طریق کاهش توانایی بیمارگر ویا حذف آن می شود که مشابه تحقیقات گیک، ناسارو وهمکاران است (۱۱و۲۰). لذا بیوکنترل بیماری ممکن است فقط در نتیجه آنتی بیوتیکها نباشد و سایر عوامل نظیر پارازیتیسم، رقابت ومقاومت القایی نیز در آن نقش داشته باشند (۲۳).

تجزیه وتحلیل آماری

با توجه به جدول مقایسه میانگین اثر تیمارها برروی 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 اثررا 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 اثررا داشته است و روی صفت عرض برگ تیمار اول با بیشترین میانگین نسبت به تیمار های بیمارگر (*P. parasitica* و *P. citrophthora*) اختلاف معنی دار روی صفت مذکور داشته است. جدول تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف بروی هرکدام از صفات به تفکیک در جداول (۱,۲ ,۳و۴) آمده است.

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

جدول۱- جدول تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف *P. cithrophthora* و *P .parasitica*, جدایه ۱۹ ,جدایه ۲۹,جدایه +۱۹*P. cithrophthora*, جدایه +۲۹*P. cithrophthora*, *P .parasitica* +جدایه ۲۹, *P .parasitica* +جدایه۱۹بر روی میانگین وزن خشک ریشه برحسب گرم

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

S.O.V	df	SS	MS	F
کل	۹۵	./۲۸۱		
تیمار	۱۵	./۲۶۴	./۰۱۷۶	۷ ۵/۵۳*
خطا	۸۰	./۲۸۱	./۰۰۰۲۲	
CV=۳/۵۱				

جدول۲- جدول تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف *P. cithrophthora* و*P .parasitica* ,جدایه ۱۹ ,جدایه ۲۹,جدایه +۱۹*P. cithrophthora*,جدایه +۲۹*P. cithrophthora* ,*P .parasitica* +جدایه ۲۹,*P .parasitica* +جدایه۱۹ بر روی میانگین ارتفاع بوته

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

S.O.V	df	SS	MS	F
کل	۹۵	۲۲۷/۸۲		
تیمار	۱۵	۱۷۸/۱۹۶	۱۱/۸۷	۱۵/۱۹*
خطا	۸۰	۴۹/۶۲	/۶۲	
CV=۳/۸۰				

جدول۳ - جدول تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف *P. cithrophthora* و*P .parasitica* ,جدایه ۱۹ ,جدایه ۲۹,جدایه +۱۹P. cithrophthora ,جدایه +۲۹*P. cithrophthora* ,*P .parasitica* +جدایه ۲۹,*P .parasitica* +جدایه۱۹ بر روی میانگین طول برگ(تیمار هادر سطح ۰/۰۵دارای اختلاف معنی دار هستند)

S.O.V	df	SS	MS	F
کل	۹۵	۱۵/۰۰۰۹۲		
تیمار	۱۵	۱۳/۴۰	/۸۹	۴۴/۶۹*
خطا	۸۰	۱/۶۰	/۰۲۰	
CV=۶/۸۳				

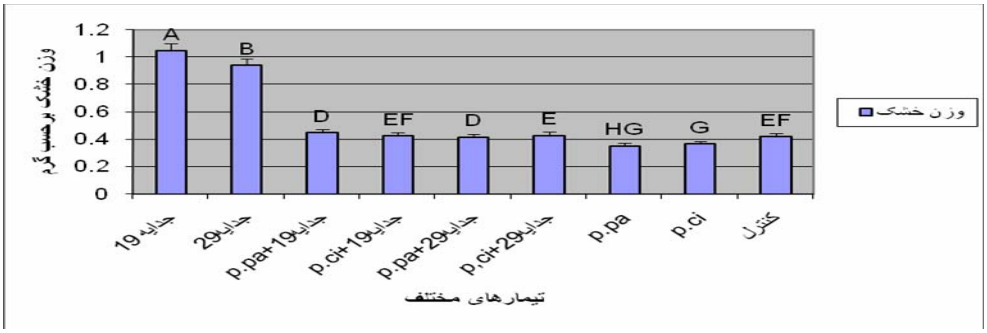
جدول٤- جدول تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف *P. cithrophthora* و*P .parasitica* ,جدایه ۱۹ ,جدایه ۲۹,جدایه +۱۹*P. cithrophthora*,جدایه +۲۹*P. cithrophthora* ,*P .parasitica* +جدایه ۲۹,P. parasitica +جدایه۱۹ بر روی میانگین میانگین عرض برگ

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

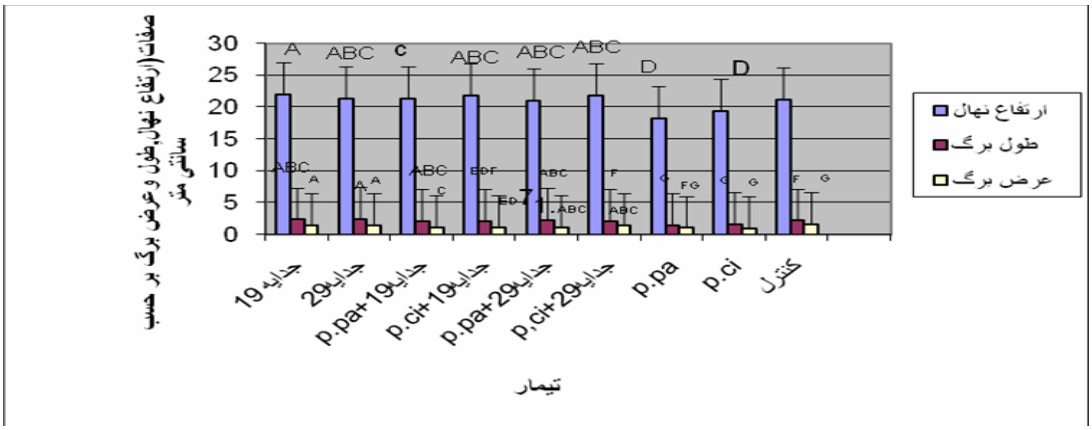
S.O.V	df	SS	MS	F
کل	۹۵	۵/۲۲		
تیمار	۱۵	۳/۵۸	۰/۲۳	۱۱/۶۳*
خطا	۸۰	۱/۶۴	/۰۲	
cv= ۱۱/۲۸				

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
جدایه ۱۹+*P.cithrophthora*	۲۰/۸ c	۰/۴۲ ef	۲/۲ edf	۱/۲ ed
P.parasitica +جدایه۱۹	۲۱/۵abc	۰/۴۵ d	۲/۳ adc	۱/۲ ed
*P.cithrophthora*جدایه +۲۹	۲۱/۳abc	۰/۴۵d	۲/۴abc	۱/۲ ed
*P.cithrophthora*جدایه +۲۹	۲۱/۳abc	۰/۴۵e	۲/۰۸f	۱/۲ab
P.parasitica	۱۸d	۰/۳۵hg	۱/۸g	./۹fg
P.cithrophthora	۱۹d	۰/۳۶g	۱/۸g	./ ۹۳G
شاهد	۲۰/۳۸c	۰/۴۳Ef	۲/۱f	۱/۴ed



نمودار۱- اثرتیمارهای مختلف *P .parasitica,P. cithrophthora* ,جدایه ۱۹و۲۹ اکتینومیست ,جدایه ۱۹+*P. cithrophthora* ,جدایه ۲۹+ *.P, P .parasitica cithrophthora* +جدایه ۲۹ ,*P.parasitica*+جدایه۱۹بر روی میانگین وزن خشک ریشه (برحسب گرم)



نمودار۲-اثرتیمارهای مختلف *P .parasitica,P. cithrophthora* ,جدایه ۱۹و۲۹ اکتینومیست ,جدایه ۱۹+*P. cithrophthora* ,جدایه ۲۹+ *.P, P .parasitica cithrophthora* +جدایه ۲۹ ,*P.parasitica*+جدایه۱۹ برروی میانگین ارتفاع نهال ،طول وعرض برگ (برحسب سانتی متر)

نتایج آزمایش‌های گلخانه‌ای نشان داد که جدایه‌هـای ۱۹و۲۹اثـر قابل توجهی در کنترل بیمارگرهای مهم قارچی خاکزاد داشته‌اند. نتایج نشان داد که این باکتری‌ها تأثیر قابل توجهی بر رشـد گیـاه و توسـعه ریشه ها در شرایط عاری از بیمارگرها داشته و مـی‌تواننـد در افـزایش عملکرد گیاه مؤثر باشند.

سپاسگزاری

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

منابع

۱- ارشاد ج. ۱۳۷۱. گونه های فیتوفترا در ایران (جداسازی –خالص سازی–شناسایی). وزارت کشا ورزی، سازمان تحقیقـات کـشاورزی. ص: ۱۸-۱۶.

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 BiotechYear: 2004 | Volume: 3 | Issue: 1 | Page No.: 90-97

4- Alejandra vial, Bernado., 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. Amethod of isolating *Phytophtora 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. Synergidtic effects of a cellulose-producting Micromonospora carbonacea and an antibiotic- producting Streptomyces violascens on the suppression of *phytophthora cinnamomi* root rot of Bankesia garandis.Candidian Journal of Botany 74:618-628.

10- El-Tarabily K. A., and Krishnapilliae Sivasithampara. 2006. Non-Streptomycetesas biocontrol agents of soil-borne rungal 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- Katzznelson H., and Cole S. E. 1965. Production of gibberllin-like substances by bacteria and actinomycetes.Canidian 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 Inpculant. COST Action 830/microbialinoculant 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 metabolits from novel Actinomycetes .Plant Growth Regulation.6:75-84.

22- Nassar A. H., El-Terabily K. A., and Sivasthemparam K. 2003.Growth promotion of bean by a polyamine-productine isolate of Streptomyces griseulutus.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 antioomycete activities of staurosporine from *Streptomyces roseoflavus* strain LS-A24. *J*. Agric. Food Chem 54 (8): 3041 -3046.

25- Id A., Ezziyyani 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., Pakgohar N., Aghighi S., Biglary S., Rashid Farrokhi P., Aminaii M., Mahdavi M. J., and Aghelizadeh A. 2006. Biological control of *Phytophthora drechsleri* Tuker 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 or ciohl Streptomycetes isolates from north Jordan.Microbios.100:41-46.
30- Valois D., Fayad K., Barasubiye T., Garon M., Dery C., Brzezincki R., and Beaulieu C. 1996. Glucanolytic actinomycetes antagonistic to *phytophthora fragariae var. rubi*, the causal agent of raspberry root rot .Applied Dnviron.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.