Biocontrol of Cucumber Damping-off by *Streptomyces* Strains Producing Siderophore and Cellulase under Extreme Condition

Sakineh Abbasi
Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, abbasi11897@gmail.com
Akram Sadeghi*
Department of Microbial Biotechnology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran, aksadeghi@abrii.ac.ir
Naser Safaie
Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran, nsafaie@modares.ac.ir

Abstract

Introduction: The purpose of this study was to select moderate extremophile antagonistic *Streptomyces* strains from the Microbial Collection of Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran to improve the growth and protection of cucumber against *Phytophthora capsici*, the causal agent of seedling damping-off disease in greenhouse conditions.

Materials and methods: First, the antagonistic activity of eight strains of *Streptomyces* against three important cucumber pathogens including *Pythium aphanidermatum*, *P. drechsleri* and *P. capsici* was investigated in *in vitro* conditions. These strains were examined for physiological characteristics, plant growth promoting traits and siderophore and cellulase production in the presence of different amount of NaCl (0%, 6%, 10%, and 12%) and temperatures of 29, 37 and 42 °*C*. Three strains with a similar potential for auxin production including IT25 (salinity tolerant), IT20 (thermophilic) and SS14 with the highest growth inhibition percentage of *P. capsici* for further studies including SA production and the ability to induce plant growth and biocontrol of cucumber seedling under greenhouse conditions were selected.

Results: The strains were able to produce siderophore at temperatures above 29 °C and siderophore production increased in SS14 and IT20 strains. Conversely, increasing the NaCl concentrations decreased siderophore production by Streptomyces. The increase in the cellulase activity at elevated temperatures was strain-dependent and was observed only for IT20. However, the increase in salinity did not change the activity of this enzyme. The treatment of soil with SS14 and IT20 increased shoot fresh and dry weights in all treatments. IT20 treatment reduced seedling damping-off by 83% compared to the infected control.

Discussion and conclusion: The two SS14 and IT20 strains, which had a good ability to control the disease and enhance plant growth, had common characteristics such as growth in the presence of 6% NaCl, siderophore production and cellulase activity under different temperatures and salinity conditions. The better performance of the IT20 and the poor performance of the IT25 may be related to their high temperature (42 °C) tolerance and intolerance, respectively, as well as their increased cellular activity and inactivity at this temperature.

Key words: *Streptomyces,* Moderate Extremophile, Phytopathogens, Plant Growth Promoting

* Corresponding author
Received: October 13, 2019/ **Accepted:** March 15, 2020

فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها
سال نهم، شماره ۳۳، بهار ۱۳۹۹، صفحه ۱-۱۳
تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۲۱ – تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۲۵

کنترل زیستی گیاهچه‌میری خیار توسط سویه‌های *استرپتومایسس* تولیدکنندهٔ سیدروفور و سلولاز در شرایط نامساعد (Extreme conditions)

سکینه عباسی: دانشجوی دکتری گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران، abbasi11368@gmail.com
اکرم صادقی*: استادیار بخش بیوتکنولوژی میکروبی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران، aksadeghi@abrii.ac.ir
ناصر صفایی: دانشیار گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران، nsafaie@modares.ac.ir

چکیده

مقدمه: هدف پژوهش حاضر، انتخاب سویه‌های *استرپتومایسس* آنتاگونیست نسبتا اکسترموفیل از مجموعهٔ میکروبی پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران برای بهبود رشد و محافظت خیار در برابر بیمارگر *Phytophthora capsici* عامل ایجادکنندهٔ بیماری مرگ گیاهچه در شرایط گلخانه بود.

مواد و روش‌ها: ابتدا فعالیت آنتاگونیستی هشت سویهٔ *استرپتومایسس* در برابر سه عامل بیمارگر مهم خیار شامل *Pythium aphanidermatum*، *P. drechsleri* و *P. capsici* در شرایط آزمایشگاه بررسی شد. سویه‌ها از نظر ویژگی‌های فیزیولوژیکی، صفت‌های محرک رشد گیاهی و تولید سیدروفور و سلولاز در حضور مقادیر مختلف NaCl (صفر، ۶، ۱۰ و ۱۲ درصد) و در دماهای ۲۹، ۳۷ و ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد بررسی شدند. سه سویه با توان مشابه برای تولید اکسین شامل IT25 (متحمل به شوری)، IT20 (نسبتاً گرمادوست) و SS14 با بیشترین درصد ممانعت از رشد *P. capsici* برای بررسی‌های بیشتر شامل تولید SA و توانایی القای رشد گیاه و کنترل زیستی گیاهچه‌میری خیار در شرایط گلخانه‌ای انتخاب شدند.

نتایج: سویه‌ها قادر بودند سیدروفور را در دماهای بیش از ۲۹ درجهٔ سانتی‌گراد تولید کنند و تولید سیدروفور در سویه‌های SS14 و IT20 افزایش یافت؛ برعکس، افزایش درصد نمک موجب کاهش تولید سیدروفور به‌واسطهٔ *استرپتومایسس*ها شد. افزایش فعالیت آنزیم سلولاز در دماهای زیاد به سویه وابسته بود و تنها در IT20 مشاهده شد؛ درحالی‌که افزایش شوری تغییری در میزان فعالیت این آنزیم ایجاد نکرد. تیمار خاک با SS14 و IT20 موجب افزایش وزن تر و خشک اندام‌های هوایی در تمام تیمارها شد. تیمار IT20 مرگ گیاهچه را به میزان ۸۳ درصد نسبت به شاهد آلوده کاهش داد.

بحث و نتیجه‌گیری: دو سویهٔ SS14 و IT20 که دارای قابلیت خوبی در کنترل بیماری و افزایش رشد گیاه بودند، ویژگی‌های مشترکی مانند رشد در حضور نمک ۶ درصد، تولید سیدروفور و فعالیت سلولازی در شرایط دمایی و شوری مختلف داشتند. عملکرد بهتر سویهٔ IT20 و عملکرد ضعیف سویهٔ IT25 را می‌توان به‌ترتیب با تحمل کردن و تحمل‌نکردن دمای زیاد (۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد) و همچنین به‌ترتیب با افزایش فعالیت و نداشتن فعالیت سلولازی آنها در این دما مرتبط دانست.

واژه‌های کلیدی: *استرپتومایسس*، نسبتا اکسترموفیل، بیمارگرهای گیاهی، محرک رشد گیاهی

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات

Copyright©2020, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0/), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

مقدمه

بیمارگرهای گیاهی خاک‌برد سالانه خسارت‌های زیادی را ایجاد می‌کنند و کنترل آنها بسیار دشوار است؛ از سویی، روش‌های زراعی و تیمارهای شیمیایی موجود نمی‌توانند خسارت عوامل بیماری‌زا را به‌طور کامل متوقف کنند (۱). گیاهچه‌میری و پوسیدگی طوقه و ریشه یکی از شایع‌ترین بیماری‌های صیفی‌جات است که سبب ایجاد خسارت‌های بسیار به‌ویژه طی تولید خیار در گلخانه‌ها می‌شود (۲). گیاهچه‌میری با عامل *Phytophthora capsici* Leonian یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های خیار در سراسر جهان است (۳).

اکتینومیست‌ها و به‌طور عمده جنس *استرپتومایسس*[1] گروه مهمی ازنظر زیست‌محیطی‌اند که نقش مهمی در بسیاری از فرایندهای زیستی ازجمله تحریک رشد گیاه و کنترل زیستی ایفا می‌کنند (۴)؛ این توانایی به سازوکارهایی ازجمله تولید فیتوهورمون‌ها[2]، انواع آنتی‌بیوتیک‌ها، سیدروفور[3]ها، آنزیم‌هایی که فعالیت ضدمیکروبی دارند و رقابت با عوامل بیماری‌زای گیاهی برای بستر و مواد مغذی مربوط می‌شود (۵). این باکتری‌ها از فراوان‌ترین ریزموجودات[4] زندهٔ خاک هستند که نقش مهمی در فرایند تجزیهٔ مواد آلی خاک به‌ویژه مولکول‌های پیچیده مانند سلولز دارند؛ علاوه‌براین، سویه‌های *استرپتومایسس* تولیدکنندهٔ آنزیم سلولاز با هیدرولیزکردن سلولز (یکی از اجزای دیوارهٔ سلولی) سبب مهار زیستی بیمارگرهای شبه‌قارچی (*اوومیست‌ها*[5]) مانند *P. drechsleri* می‌شوند و از ایجاد بیماری در گیاه جلوگیری می‌کنند (۶). این دسته از باکتری‌ها انواعی از مولکول‌های آلی معروف به سیدروفور را ترشح می‌کنند؛ این مواد شکل نامحلول آهن را کلاته و در ریزوسفر گیاهان روییده در خاک‌های فقیر ازنظر آهن جمع می‌کنند. گیاهان دولپه معمولا می‌توانند آهنی را که این باکتری‌ها کلات می‌کنند، استفاده کنند (۷)؛ ازاین‌رو، گونه‌های *استرپتومایسس* می‌توانند جایگزین‌های طبیعی سموم و کودهای شیمیایی در تولید محصولات گلخانه‌ای باشند (۸ و ۹). این دسته باکتری‌ها در زیستگاه‌های طبیعی و در زیستگاه‌های غیرمعمول با درجه‌حرارت‌های کم یا زیاد و در معرض تنش آب و شوری نیز مشاهده می‌شوند (۱۰). برخی باکتری‌های ریزوسفری افزایندهٔ رشد گیاه[6] با تولید متابولیت‌ها یا اسمولیت[7]ها نقش مهمی در افزایش تحمل گیاه به تنش‌های محیطی ایفا می‌کنند (۱۱).

شوری و دمای خاک ازجمله عوامل غیرزنده‌ای‌اند که در ظرفیت رقابتی عوامل زیستی منتخب دخالت می‌کنند؛ بنابراین، تحمل شوری و دمای زیاد باید یکی از معیارهای انتخاب باکتری‌ها با هدف سازگاری در خاک‌های شور یا محیط‌های دارای دمای زیاد باشد (۱۲). دستیابی به شرایط بهینه و مقرون‌به‌صرفهٔ کشت سویهٔ برتر میکروبی نقش مهمی در تولید صنعتی آن دارد و متغیرهایی مانند نوع محیط کشت، افزودنی‌های ضروری، دما و اسیدیته باید برای تکثیر جمعیت باکتری همراه با حفظ فیزیولوژی سلول در نظر گرفته شوند (۱۳).

مطالعهٔ حاضر با اهداف زیر انجام شد:

۱) غربال *استرپتومایسس*های جداشده از ریزوسفر صیفی‌جات گلخانه‌ای برای سویه‌های آنتاگونیست سه عامل بیمارگر خاک‌برد خیار (*Pythium aphanidermatum*، *P. drechsleri* و *P. capsici*)؛

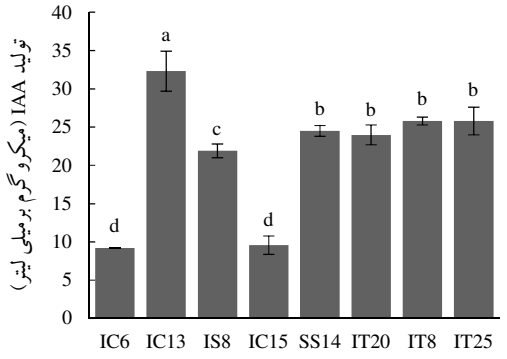
۲) تعیین ویژگی‌های فیزیولوژیکی و فعالیت‌های زیستی سویه‌های منتخب در دماهای زیاد و غلظت‌های مختلف شوری در شرایط آزمایشگاه؛

۳) بررسی تأثیر دمای محیط بر فعالیت آنتاگونیستی سوسپانسیون سلولی و عصارهٔ کشت سویهٔ برتر در شرایط آزمایشگاه؛

۴) بررسی توانایی تحریک رشد گیاه و کنترل زیستی بیماری گیاهچه‌میری خیار ناشی از *P. capsici* در سطح گلخانه.

مواد و روش‌ها

سویه‌های میکروبی: هشت سویه با کدهای IC13، IC15، IC6، IS8، IT20، IT25، IT8 و SS14 از ۱۰۶ سویهٔ موجود در مجموعهٔ میکروبی پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (ABRIICC) که ویژگی‌های محرک رشدی (PGP) مانند تولید اکسین، انحلال فسفات معدنی و توانایی رشد روی محیط بدون نیتروژن را داشتند، انتخاب شدند (۱۴). ازآنجاکه به مقایسهٔ این سویه‌ها ازنظر تولید اکسین در بخش بحث مقالهٔ حاضر اشاره شده است، نتایج مربوط به تولید اکسین از منبع شمارهٔ ۱۴ استخراج و در مطالعهٔ حاضر با ذکر منبع در قالب شکل ۱ و در بخش مواد و روش‌ها آورده شدند. تمام سویه‌های یادشده (به‌جز سویهٔ IT25) توانایی تولید سیدروفور را داشتند و ازنظر فعالیت سلولازی مثبت بودند. عوامل بیمارگر *P. drechsleri* و *P. capsici* از ABRIICC و *P. aphanidermatum* از مؤسسهٔ چغندرقند کرج (دکتر مژدهٔ کاکوئی‌نژاد) تهیه و آزمون‌های بیماری‌زایی با مایه‌زنی پرگنهٔ قارچ در کنار گیاهچه‌های خیار انجام شدند (۱۵).



شکل ۱- میزان تولید اکسین (IAA) سویه‌ها (برگرفته از منبع ۱۴)؛ حرف‌های مشابه تفاوت‌های غیرمعنادار مطابق دامنهٔ دانکن را نشان می‌دهند ($P<0.05$).

اثر آنتاگونیستی سویه‌های *استرپتومایسس*: مقدار ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون سلولی سویه‌ها (10^8 واحد تشکیل‌دهندهٔ کلنی در میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل) به‌طور خطی در دو سمت مقابل پلیت حاوی محیط PDA[8] (در ۱ سانتی‌متری از لبه) تلقیح شد. پلیت‌ها به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۹ درجهٔ سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری شدند؛ سپس قرصی از کشت پنج‌روزهٔ عامل بیمارگر (قطر ۵ میلی‌متر) در مرکز پلیت PDA قرار داده شد و پلیت‌ها به‌مدت ۴ روز در انکوباتور نگهداری شدند (۱۶). درصد مهار رشد میسلیومی عامل بیمارگر از رابطهٔ $(a-b)/a\times100$ محاسبه شد؛ در این رابطه، a رشد شعاعی قارچ در پلیت شاهد[9] (پلیت حاوی قرص قارچ بدون باکتری) و b رشد قارچ کشت‌شده با باکتری به سانتی‌متر است.

ویژگی‌های فیزیولوژیکی و فعالیت زیستی سویه‌ها در شرایط مختلف کشت: به‌منظور مطالعهٔ توانایی رشد سویه‌های *استرپتومایسس* در دماهای زیاد، سویه‌های کشت‌شده (به‌طور خطی) روی محیط ISP2[10] (۱۰ گرم‌درلیتر عصارهٔ مالت، ۴ گرم‌درلیتر عصارهٔ مخمر، ۴

گرم‌درلیتر گلوکز و ۱۸ گرم‌درلیتر آگار با اسیدیتهٔ ۷/۲) به‌مدت ۵ روز در دماهای ۲۹، ۳۷ و ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند. به‌منظور بررسی تحمل به شوری، باکتری‌ها روی محیط ISP2 حاوی غلظت‌های مختلف نمک NaCl (صفر، ۶، ۱۰ و ۱۲ درصد) به‌طور لکه‌ای کشت و ارزیابی شدند (۱۷). فعالیت زیستی سویه‌ها شامل تغیرات در تولید سیدروفور روی محیط CAS-agar (۱۸) و فعالیت آنزیم سلولاز روی محیط حاوی CMC (۱۹) در این تیمارها تا ۱۰ روز پس‌از کشت بررسی شد. به‌منظور بررسی آزمون حساسیت به قارچ‌کش ریدومیل (Ridomil GOLD® MZ 68)، سویه‌های *استرپتومایسس* روی محیط ISP2 ترکیب‌شده با قارچ‌کش به میزان ۲ گرم‌درلیتر کشت و به‌مدت ۵ روز در دمای ۲۹ درجهٔ سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری شدند. به‌منظور نمایش رشد زیاد، رشد متوسط و رشدنکردن باکتری به‌ترتیب از نشانه‌های ++، + و – استفاده شد.

تولید سالیسیلیک‌اسید[11] (SA): مقدار ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتری کشت‌شده در محیط ISP2 مایع به ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۵۰ میلی‌لیتر محیط‌کشت سوکسینات اضافه شد. ارلن روی دستگاه شیکرانکوباتور با سرعت ۱۵۰ دوردردقیقه در دمای ۲۹ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد (۲۰). پس‌از ۴۸ ساعت، سوسپانسیون کشت به‌مدت ۵ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دوردردقیقه سانتریفیوژ و ۴ میلی‌لیتر از مایع رویی با کلریدریک‌اسید، اسیدی (اسیدیتهٔ ۲) شد و SA با کلروفرم استخراج شد. جذب ترکیب آهن-SA در فاز مایع در طول موج ۵۲۷ نانومتر با اسپکتروفتومتر (Tecan M100 infinit, Switzerland) خوانده شد. منحنی استاندارد با SA حل‌شده در محیط سوکسینات با غلظت‌های صفر، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام تهیه شد. مقدار SA به‌شکل میلی‌گرم‌درمیلی‌لیتر بیان شد (۲۱).

شرایط رشد گیاه، تیمار باکتری‌ها در خاک و مایه‌زنی گیاهچه‌های خیار با *P. capsici*: بذرهای ضدعفونی‌شده (*Cucumis sativus* L. cv Negin) درون پلیت شیشه‌ای قرار گرفتند و در اتاقک رشد با دمای ۲۷ درجهٔ سانتی‌گراد و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. رسوب باکتری در محیط‌کشت مایع ISP2 با استفاده از سانتریفیوژ (به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۸۰۰۰ دوردردقیقه) تهیه شد و دوباره در محلول سرم فیزیولوژیک استریل سوسپانسیون شد؛ این سوسپانسیون به ماسهٔ استریل اضافه و در غلظت نهایی 10^6 واحد تشکیل‌دهنده کلنی در گرم تنظیم شد. مقدار ۳ گرم ماسهٔ حاوی باکتری به هر سلول سینی کشت ۸۴ سلولی (عمق ۵×۳۰×۵۰ سانتی‌متر) حاوی خاک مزرعه و پیت‌ماس (۱: ۲) اضافه شد و ماسهٔ استریل برای شاهد استفاده شد. پنج روز پس‌از تیمار خاک با باکتری، یک گیاهچه در هر سلول سینی کشت شد. دمای هوا در طول آزمایش از ۳۰ تا ۳۲ درجهٔ سانتی‌گراد متغیر بود. پیش از تلقیح عامل بیمارگر، خاک تا سطح اشباع آبیاری شد و آبیاری در دورهٔ آزمایش به‌طور روزانه انجام شد. پنج روز پس‌از تیمار خاک با باکتری، پرگنه‌های ۲×۲ سانتی‌مترمربعی از کشت پنج‌روزهٔ عامل بیمارگر در کنار طوقهٔ گیاهچه تلقیح شدند. تیمارها شامل شاهد منفی، شاهد مثبت (تلقیح‌شده با *P. capsici*) و سه سویهٔ *استرپتومایسس* (IT20، IT25 و SS14) تلقیح‌شده یا تلقیح‌نشده با *P. capsici* بودند. دو هفته پس‌از مایه‌زنی،

شیوع بیماری پوسیدگی طوقه (درصد گیاهچه‌های بیمار و دارای علامت پوسیدگی) محاسبه و بررسی شد؛ سپس گیاهچه‌ها برداشت و شاخص‌های رشد شامل وزن تر و خشک ریشه و بخش‌های هوایی اندازه‌گیری و ثبت شدند.

اثر ترکیبات فرار[۱۲] سویهٔ منتخب باکتری بر رشد *P. capsici*: به‌منظور بررسی مواد مؤثرهٔ فرار، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری رشدیافته در دمای ۲۹ درجهٔ سانتی‌گراد بر سطح پلیت حاوی محیط ISP2 پخش شد. سر این پلیت با کف پلیت حاوی کشت پنج‌روزهٔ *P. capsici* روی محیط PDA جایگزین و اطراف آن با نوار پارافیلم بسته شد و در انکوباتور با دمای ۲۹ درجهٔ سانتی‌گراد قرار گرفت. در نمونهٔ شاهد، باکتری روی پلیت حاوی محیط ISP2 کشت نشد. پنج روز پس‌از کشت، میزان رشد شعاعی بیمارگر اندازه‌گیری و درصد مهار رشد میسلیومی عامل بیمارگر از رابطهٔ (a-b)/a×100 محاسبه شد (۲۲).

اثر عصاره‌های خارج‌سلولی[۱۳] سویهٔ منتخب بر رشد *P. capsici*: سه قرص به قطر ۵ میلی‌متر ازکشت پنج‌روزهٔ باکتری جدا و در ارلن ۵۰۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط ISP2 انداخته شد. ارلن حاوی محیط مایه‌زنی‌شده با باکتری به‌مدت ۴۸ ساعت در شیکرانکوباتور با سرعت ۱۲۵ دوردردقیقه و دمای ۲۹ یا ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد. به‌منظور تهیهٔ عصاره‌های خارج‌سلولی باکتری، محتویات ارلن از کاغذ صافی و سپس از فیلتر (۰/۲۲ میکرومتر) عبور داده شدند. تیمارها شامل سوسپانسیون باکتری رشدیافته در دمای ۲۹ یا ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد، عصارهٔ فیلترشدهٔ باکتری رشدیافته در دمای ۲۹ یا ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد و عصارهٔ فیلترشدهٔ جوشیده (به‌مدت ۸ دقیقه در دمای ۹۰ درجهٔ سانتی‌گراد) بودند. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از هر تیمار در چاهک ایجادشده بر سطح محیط PDA ریخته شد. محیط ISP2 مایع استریل (کشت‌نشده) برای شاهد استفاده شد. پنج ساعت پس‌از اضافه‌کردن محلول در چاهک، قرصی به قطر ۵ میلی‌متر از کشت پنج‌روزهٔ *P. capsici* در وسط پلیت قرار داده شد. پلیت‌ها در دمای ۲۹ درجهٔ سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری شدند و رشد شعاعی بیمارگر پس‌از پنج روز بررسی شد (۲۲).

تجزیه‌وتحلیل آماری نتایج: تجزیه‌وتحلیل آماری با آنالیز واریانس (ANOVA) به کمک Microsoft Excel(نسخهٔ ۲۲) و SPSS انجام شد. تمام بررسی‌های درون شیشه‌ای (*in vitro*) در سه تکرار انجام شدند. آزمایش گلخانه‌ای در قالب طرح کاملا تصادفی با ۱۰ تکرار انجام شد. آزمایش‌های گلخانه‌ای دو بار تکرار شدند. اختلاف معنادار بین تیمارها با آزمون دانکن در سطح $P<0.05$ بررسی شد.

نتایج

غربال سویه‌های آنتاگونیست *استرپتومایسس*: تمام سویه‌های بررسی‌شده اثر بازداری از رشد روی قارچ‌های مطالعه‌شده نشان دادند. سویه‌های IC6، IS8 و IC13 بیش از ۵۰ درصد از رشد میسلیومی *P. drechsleri* جلوگیری کردند. سویه‌های IC6 و IT25 در حدود ۵۰ درصد از رشد *P. capsici* ممانعت کردند. *سویه‌های* IT20 و SS14 بیش از ۶۰ درصد از رشد *P. capsici* جلوگیری کردند؛ این دو سویه در مقایسه با سایر سویه‌ها بیشترین میزان مهار زیستی علیه *P. capsici* را نشان دادند. دو سویهٔ IT20 و SS14 ازنظر میزان ممانعت

از رشد *P. drechsleri* در یک گروه آماری قرار گرفتند و دو سویه در برابر دو گونهٔ مختلف از جنس *Phytophthora* رفتار تقریبا مشابهی از خود نشان دادند. سویهٔ IT20 بیش از ۶۰ درصد از رشد *P. aphanidermatum* ممانعت کرد؛ این دو باکتری باتوجه‌به درصد متفاوت مهار زیستی *Pythium aphanidermatum* از هم تفکیک شدند (جدول ۱).

جدول ۱- درصد جلوگیری از رشد سویه‌های مطالعه‌شده روی *Phytophthora drechsleri*، *P. capsici* و *Pythium aphanidermatum* پنج روز پس‌از نگهداری در انکوباتور با دمای ۲۹ درجهٔ سانتی‌گراد

سویه	مهار رشد قارچ بیمارگر(درصد)		
	P. drechsleri	*P. capsici*	*P. aphanidermatum*
IC13	۵۲/۰±۱/۰^{c}	۵۸/۷±۱/۲^{c}	۵۴/۴±۱/۰^{b}
IC15	۴۷/۴±۲/۲^{d}	۴۰/۰±۰/۰^{e}	۱۷/۸±۰/۳^{e}
IC6	۶۹/۶±۰/۶^{a}	۴۹/۱±۰/۹^{d}	۲/۷±۰/۱^{g}
IS8	۵۷/۶±۱/۰^{b}	۱۸/۸±۱/۱^{f}	۱۲/۶±۰/۶^{f}
IT20	۱۸/۹±۱/۰^{f*}	۶۹/۵±۱/۰^{a}	۶۰/۳±۱/۱^{a}
IT25	۲۷/۰±۱/۲^{e}	۴۹/۶±۰/۵^{d}	۳۴/۲±۰/۸^{c}
IT8	۱۲/۰±۱/۱^{g}	۵۰/۰±۰/۱^{d}	۱۱/۹±۰/۴^{f}
SS14	۱۹/۲۳±۰/۷^{f}	۶۳/۱±۰/۸^{b}	۲۳/۵±۰/۹^{d}

عددها میانگین سه تکرار±خطای استاندارد هستند

*حرف‌های مشابه تفاوت‌های غیرمعنادار مطابق دامنهٔ دانکن را نشان می‌دهند ($P<0.05$)

ویژگی‌های فیزیولوژیکی و فعالیت زیستی سویه‌ها در شرایط مختلف کشت: تمام سویه‌ها قادر به رشد روی محیط حاوی ۶ درصد نمک بودند و در غلظت بیشتر نمک، تنها سویهٔ IC6 رشد کرد. تنوع سویه‌ها ازنظر رشد در دمای ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد بیشتر بود و سویهٔ IT20 بیشترین رشد را در این دما داشت؛ درحالی‌که دو سویهٔ IT25 و SS14 قادر به رشد در این دما نبودند. از هشت سویهٔ مطالعه‌شده، پنج سویه در محیط حاوی قارچ‌کش شیمیایی رشد کردند، اما سه سویهٔ IC13، IT8 و SS14 در این شرایط رشد نکردند (جدول ۲).

در برخی سویه‌ها، افزایش دما سبب افزایش تولید هالهٔ نارنجی سیدروفور روی محیط CAS-agar و در دیگر سویه‌ها سبب کاهش آن شد. سویه‌های IT20 و SS14 در دمای ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد هالهٔ سیدروفور بزرگ‌تری را نسبت به دماهای کمتر و در مقایسه با باکتری‌های دیگر تولید کردند (جدول ۳)؛ این دو سویه بزرگ‌ترین هالهٔ سیدروفوری را در شوری‌های ۶ و ۱۰ درصد تشکیل دادند. رشد دو سویهٔ IC6 و IT25 با افزایش درصد شوری افزایش یافت و اگرچه سویهٔ IC6 توانایی رشد در شوری ۱۳ درصد را داشت، بزرگ‌ترین هالهٔ سیدروفوری تشکیل‌شده در شوری ۱۳ درصد به IT25 مربوط بود. سویهٔ IT8 در دو سطح شوری بیش از ۶ درصد هالهٔ سیدروفوری تشکیل نداد. در برخی سویه‌ها، فعالیت آنزیم سلولاز همانند فعالیت سیدروفوری با افزایش دما افزایش یافت. میزان فعالیت آنزیم سلولاز در سویه‌های IC6 و IT20 در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد در مقایسه با ۲۹ درجهٔ سانتی‌گراد افزایش یافت. فعالیت سلولازی IT20 در دمای ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد ثابت ماند، اما فعالیت سلولازی IC6 کاهش یافت. سویهٔ IT25 فعالیت سلولازی نداشت و افزایش دما هیچ‌گونه فعالیت آنزیمی را در آن القا نکرد؛ همچنین افزایش شوری هیچ تأثیری بر فعالیت سلولازی سویه‌ها نداشت (جدول ۳).

جدول۲- تعیین ویژگی‌های فیزیولوژیکی و ژنتیکی سویه‌ها

سویه	بیشترین شباهت	کد بانک ژن NCBI	رشد در ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد	رشد در حضور ۶ درصد NaCl	رشد در حضور ۱۰ درصد NaCl	تحمل به قارچ‌کش ریدومیل (۲۰۰۰ پی‌پی‌ام)
IC13	*S. mutabilis*	MG676358	+	+	-	−
IC15	*S. viridodiastaticus*	MG685667	+	+	-	+
IC6	*S. luteus*	MH041276	+	++	+	+
IS8	*S. luteus*	MH041315	+	+	-	+
IT20	*S. rochei*	MK858186	++	+	-	+
IT25	*S. enissocaesilis*	MG722685	-	++	-	+
IT8	*S. mutabilis*	MG685901	+	+	-	−
SS14	*S. vinaceusdrappus*	MH041316	-	+	-	−

رشد زیاد، رشد متوسط و رشدنکردن باکتری به‌ترتیب با نشانه‌های ++، + و − نشان داده شده است.

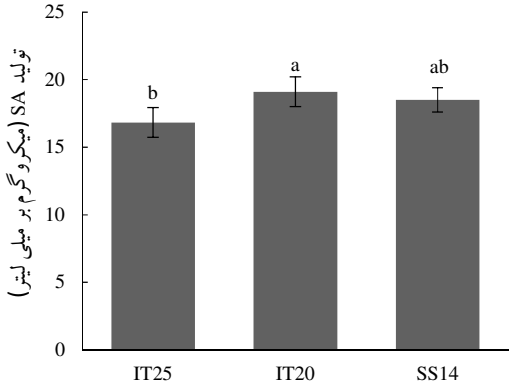
جدول ۳- تولید سیدروفور و فعالیت سلولازی سویه‌های آنتاگونیست در دماها و غلظت‌های مختلف نمک

سویه	سیدروفور (۲۹°C)	سیدروفور (۳۷°C)	سیدروفور (۴۲°C)	سیدروفور (NaCl ۶%)	سیدروفور (NaCl ۱۰%)	سیدروفور (NaCl ۱۳%)	سلولاز (۲۹°C)	سلولاز (۳۷°C)	سلولاز (۴۲°C)	سلولاز (NaCl ۶%)	سلولاز (NaCl ۱۰%)	سلولاز (NaCl ۱۳%)
IC13	+	++	+	+	+	+	+	++	+	+	+	+
IC15	+	+	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+
IC6	+	++	+	++	+	+	+	++	+	+	+	+
IS8	+	++	+	+	+	+	++	+	+	+	+	+
IT20	+	+	++	++	++	+	+	++	++	+	+	+
IT25	+	+	+	+	++	++	-	-	-	-	-	-
IT8	+	++	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
SS14	+	+	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+

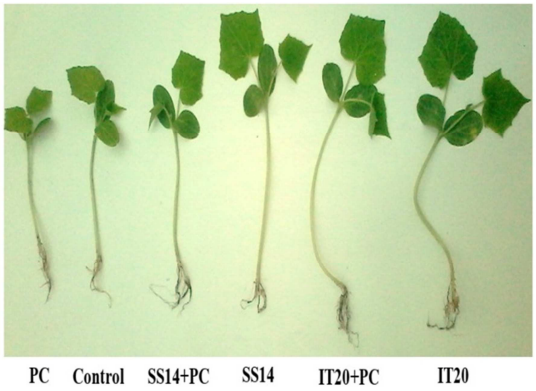
رشد زیاد، رشد متوسط و رشدنکردن باکتری به‌ترتیب با نشانه‌های ++، + و − نشان داده شده است.

تولید SA: دو سویهٔ IT20 و SS14 تفاوت معناداری ازنظر میزان تولید SA نشان ندادند. تفاوت معناداری بین IT20 و IT25 ازنظر میزان تولید SA مشاهده شد. بیشترین مقدار SA مربوط به سویهٔ IT20 بود (شکل ۲).

کنترل زیستی بیماری گیاهچه‌میری در شرایط گلخانه: پانزده روز پس‌از مایه‌زنی عامل بیمارگر، کارایی محرک رشدی و کنترل زیستی سویه‌های منتخب روی بیماری گیاهچه‌میری در خیار با عامل *P. capsici* در شرایط گلخانه بررسی شد و تفاوت معناداری ازنظر وزن تر و خشک ریشه بین تیمارها و شاهد مشاهده نشد (داده‌ها نشان داده نشده‌اند) (شکل ۳).



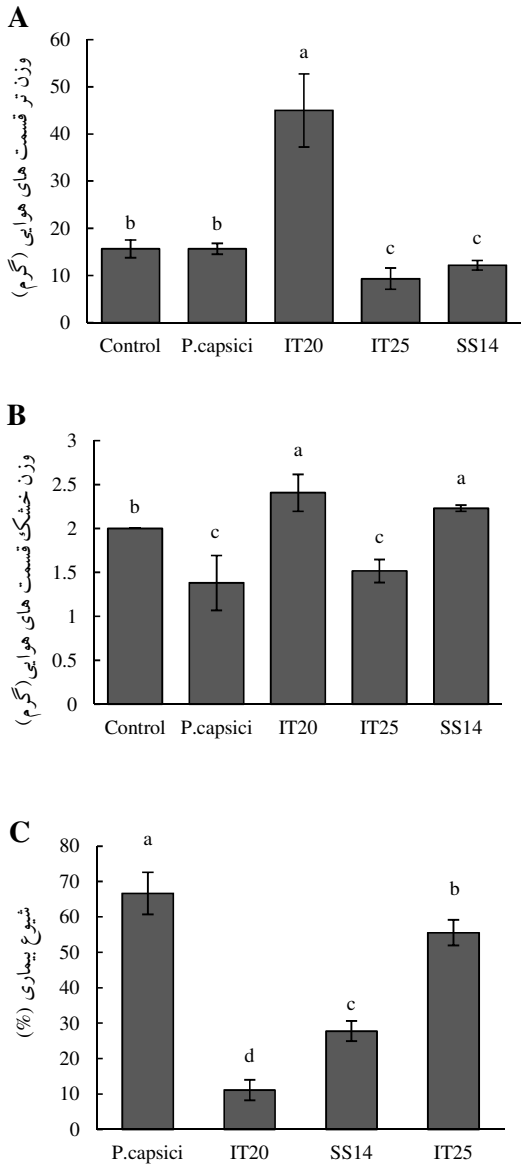
شکل ۲- میزان تولید سالیسیلیک‌اسید در سویه‌های منتخب آنتاگونیست؛ حرف‌های مشابه تفاوت‌های غیرمعنادار مطابق دامنهٔ دانکن را نشان می‌دهند ($P<0.05$)



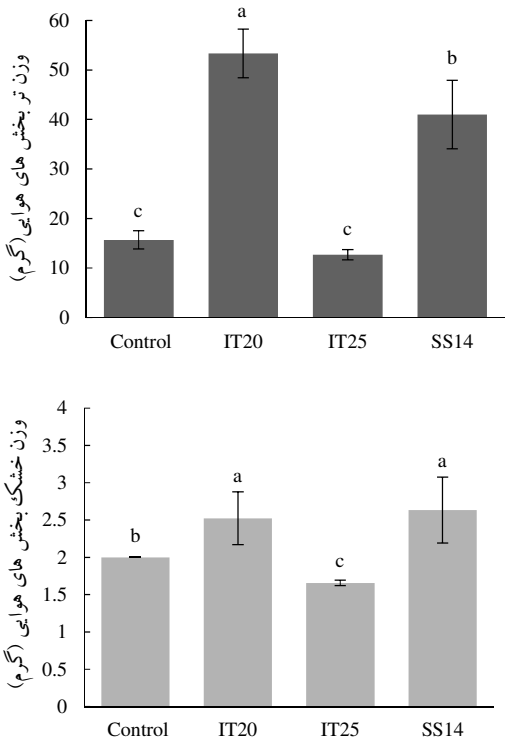
شکل ۳- گیاهچه‌های خیار مایه‌زنی‌شده با (PC) *P. capsici* و بدون مایه‌زنی پس‌از پانزده روز از تیمار باکتری‌ها

در تیمار IT20 مایه‌زنی‌شده با عامل بیمارگر، وزن تر و خشک بخش‌های هوایی به‌ترتیب ۱۸۰ و ۷۳ درصد نسبت به تیمار قارچ بیمارگر (شاهد آلوده[۱۴]) و به‌طور معنادار افزایش یافت (شکل ۴، A و B). کمترین میزان وزن خشک بخش‌های هوایی به شاهد آلوده و تیمار IT25 مربوط بود. وزن خشک گیاهچه‌های تیمارشده با سویهٔ SS14 مایه‌زنی‌شده با عامل بیمارگر نیز افزایش یافت و تفاوت معناداری بین تیمارهای IT20 و SS14 وجود نداشت (شکل ۴،B). تفاوت معناداری ازنظر شیوع بیماری بین تیمارها مشاهده شد ($P<0.05$) و بیشترین درصد شیوع بیماری (۶۶ درصد) به شاهد آلوده مربوط بود و کمترین میزان شیوع بیماری (۱۷ درصد در مقایسه با شاهد آلوده) در تیمار IT20 مشاهده شد (شکل ۴، C).

القای رشد گیاه: پانزده روز پس‌از تیمار خاک با باکتری‌ها، کارایی سویه‌های منتخب در شرایط گلخانه بررسی شد و تفاوت معناداری ازنظر وزن تر و خشک ریشه بین تیمارها و شاهد مشاهده نشد (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). SS14 و IT20 به‌طور معناداری وزن خشک بخش‌های هوایی را ۳۰ درصد نسبت به شاهد افزایش دادند (شکل ۵، B). تیمار IT20 با ۳/۵ برابر افزایش وزن تر و ۳۰ درصد افزایش وزن خشک بخش‌های هوایی در مقایسه با شاهد، بهترین تیمار انتخاب شد (شکل ۵).

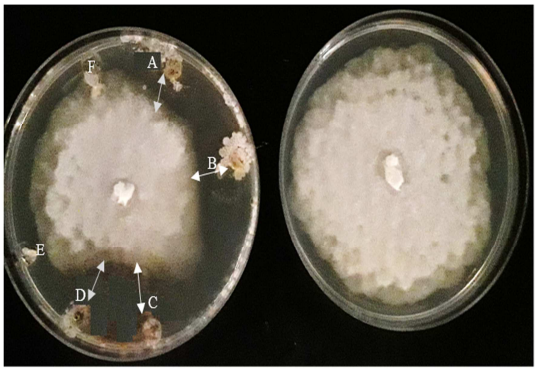


شکل ۴- مقایسهٔ اثر کنترل زیستی بیماری گیاهچه‌میری سویه‌های باکتریایی بر اساس شاخص‌های وزن تر بخش‌های هوایی (A)، وزن خشک بخش‌های هوایی (B) و شیوع بیماری (C) پانزده روز پس‌از مایه‌زنی عامل بیمارگر در شرایط گلخانه؛ شاهد مثبت: *P.capsici*، شاهد منفی: Control. حرف‌های مشابه تفاوت‌های غیرمعنادار مطابق دامنهٔ دانکن را نشان می‌دهند ($P<0.05$).



شکل ۵- مقایسهٔ اثر محرک رشد سویه‌ها روی وزن تر و خشک بخش‌های هوایی پانزده روز پس‌از تیمار باکتری‌ها در شرایط گلخانه؛ شاهد منفی: Control. حرف‌های مشابه تفاوت‌های غیرمعنادار مطابق دامنهٔ دانکن را نشان می‌دهند ($P<0.05$)

بررسی اثر ترکیبات فرار و غیرفرار سویهٔ منتخب (IT20) روی *P. capsici*: ترکیبات فرار سویهٔ IT20 ممانعت از رشد معناداری روی *P. capsici* نشان ندادند (داده‌ها نشان داده نشده‌اند). عصارهٔ غیرفرار IT20 در شرایط مختلف بین صفر تا ۵۵ درصد مانع از رشد *P. capsici* شد (شکل ۶). ممانعت از رشد سوسپانسیون سلولی باکتری رشدیافته در دمای ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد، ۱۰ درصد بیش از سوسپانسیون سلولی رشدیافته در انکوباتور با دمای ۲۹ درجهٔ سانتی‌گراد بود. ممانعت از رشد *P. capsici* در اثر عصارهٔ IT20 رشدیافته در دمای ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد، ۱۵ درصد بیشتر از عصارهٔ IT20 رشدیافته در دمای ۲۹ درجهٔ سانتی‌گراد بود. عصارهٔ جوشاندهٔ باکتری هیچ‌گونه اثر ممانعت از رشد روی *P. capsici* نداشت (شکل ۶، F).



شکل ۶- تأثیر سویهٔ IT20 رشدکرده در دمای ۲۹ درجهٔ سانتی‌گراد (A) و ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد (B)، سوسپانسیون کشت فیلترشدهٔ باکتری رشدیافته در ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد (C) و ۲۹ درجهٔ سانتی‌گراد (D)، محیط مایع بدون کشت باکتری (E) و عصارهٔ باکتری جوشانده (F) در مهار رشد *P.capsici* هفت روز پس‌از نگهداری در انکوباتور ۲۹ درجهٔ سانتی‌گراد

بحث و نتیجه‌گیری

دماهای زیاد و شوری از مهم‌ترین عوامل غیرزیستی تأثیرگذار بر رقابت و زنده‌مانی میکروب‌ها در ریزوسفر به شمار می‌آیند. یکی از نتایج جالب پژوهش حاضر، مشاهدهٔ فعالیت آنزیمی و تولید سیدروفور در دمای ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد به‌واسطهٔ سویه‌هایی بود که توانایی رشد روی محیط‌کشت بهینه (ISP2) را در این دما نداشتند؛ این مسئله کاملا به سویه و نوع فعالیت (تولید سیدروفور یا فعالیت سلولازی) وابسته است. نتایج پژوهش حاضر نشان دادند دماهای بیش از ۲۹ درجهٔ سانتی‌گراد عامل تحریک‌کننده‌ای برای افزایش تولید سیدروفور هستند و برعکس، افزایش درصد شوری موجب کاهش تولید سیدروفور گونه‌های

استرپتومایسس می‌شود؛ از سوی دیگر، افزایش دما تا محدودهٔ معینی موجب افزایش فعالیت آنزیم سلولاز شد، ولی درصد شوری تغییری در میزان فعالیت این آنزیم ایجاد نکرد (جدول ۳). سویهٔ IT20 (باکتری نسبتا گرمادوست) بیشترین درصد ممانعت از رشد را روی *P. capsici* و *P. aphanidermatum* در مقایسه با سایر سویه‌ها نشان داد. سویهٔ IC6 (سویهٔ متحمل به شوری) بیشترین درصد ممانعت از رشد را روی *P. drechsleri* در مقایسه با سایر سویه‌ها نشان داد. بر اساس نتایج یادشده، گونه‌ای از *استرپتومایسس* مانند *S. rochei* می‌تواند دو جنس متفاوت از *اوومیست* (*Phytophthora* و *Pythium*) را کنترل کند و از سوی دیگر، توان گونه‌های *مختلف استرپتومایسس* برای مهار زیستی گونه‌ها یا جنس‌های اوومیستی متفاوت است.. تمام سویه‌ها (به‌جز IC13، SS14 و IT8) غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام قارچ‌کش ریدومیل را تحمل کردند (جدول ۲) و غلظت‌های کمتر از ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام قارچ‌کش ریدومیل تأثیری بر رشد سویه‌های مطالعه‌شده نداشتند؛ این قارچ‌کش به‌طور معمول علیه بیمارگرهای اوومیستی استفاده می‌شود. توانایی *استرپتومایسس*ها در تحمل و تخریب انواع سموم شیمیایی گزارش شده است (۲۳)؛ بنابراین، به‌منظور کاهش استفاده از این سم شیمیایی می‌توان سویه‌های متحمل را در شرایطی که از سموم بیش از حد استفاده شده است و قارچ‌ها مقاوم شده‌اند یا حتی پس‌از سم‌پاشی استفاده کرد. ایندول-۳-استیک‌اسید (IAA)، هورمون گیاهی رایجی است که به کلاس اکسین‌ها تعلق دارد. این هورمون نقش مهمی در رشد و نمو گیاهان دارد و سبب افزایش رشد و تقسیم سلولی می‌شود. افزایش تولید IAA در گیاهان تحریک‌شده با *Streptomyces* sp. گزارش شده است (۲۴ و ۲۵). در آزمایش‌های گلخانه‌ای، عملکرد گونه‌های مختلف *اسپریتومایسس* که توانایی تولید اکسین را دارند، ممکن است متفاوت باشد (۲۶). در مطالعهٔ حاضر، سه سویه با توان مشابه برای تولید اکسین شامل IT25 (متحمل به شوری)، IT20 (نسبتا گرمادوست) و SS14 با بیشترین درصد ممانعت از رشد *P. capsici* برای بررسی‌های بیشتر شامل تولید SA و آزمایش‌های گلخانه‌ای انتخاب شدند. باکتری‌ها به‌طور معمول SA را به‌شکل متابولیت‌های حاوی SA شامل سیدروفور مبتنی بر سالیسیلیک‌اسید (salicylic acid-based siderophore) تولید می‌کنند. تولید SA در برخی گونه‌های *سودوموناس* که توانایی کنترل زیستی برخی *اوومیست*‌های بیمارگر خیار را دارند، گزارش شده است (۲۷). افزایش غلظت SA به‌طور معناداری مانع از رشد هیف‌ها و جوانه‌زنی کنیدی برخی قارچ‌ها در محیط مایع و جامد می‌شود و می‌تواند روش بالقوه‌ای در مدیریت بیماری‌ها باشد (۲۸). استفاده از SA به‌شکل اسپری روی برگ به محافظت در برابر طیف وسیعی از بیمارگرهای گیاهی از طریق ایجاد مقاومت سیستمیک منجر می‌شود (۲۹). علت عملکرد متفاوت سه سویهٔ IT20، SS14 و IT25 در شرایط گلخانه به تولید SA در شرایط مختلف مربوط است. تولید SA در باکتری با دما مرتبط است و برخی باکتری‌ها می‌توانند SA را در دماهای زیاد تولید می‌کنند؛ در این شرایط، بیوسنتز SA و سیدروفور مبتنی بر سالیسیلیک‌اسید افزایش می‌یابد و موجب واکنش در گیاه می‌شود، ولی چنین عملکردی در دمای کم مشاهده نمی‌شود (۲۹). توانایی باکتری‌های محرک رشد گیاه در تولید SA که در بسیاری حالات با تولید سیدروفورها در شرایط آهن محدود مرتبط است، گزارش شده است؛ برخی از این ریزوباکتری‌ها

توانایی القای مقاومت سیستمیک گیاه در برابر بیماری‌ها را نیز دارند. میر[۱۵] و هافته[۱۶] عوامل مهم و تعیین‌کنندهٔ القای مقاومت لوبیا در برابر *Botrytis cinerea* (عامل بیماری پوسیدگی خاکستری) به‌وسیلهٔ ریزوباکتری‌های *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 را بررسی کردند. مطالعهٔ جهش‌یافته‌های *P. aeruginosa* 7NSK2 که سه سیدروفور پایووردین، پیوچلین و سیدروفور مبتنی بر SA را در شرایط کمبود آهن تولید می‌کنند، نشان داد مقاومت ناشی از 7NSK2 با سیدروفور مبتنی بر SA مرتبط است (۳۰). در مطالعهٔ حاضر برای نخستین‌بار، کنترل زیستی بیماری گیاهچه‌میری خیار ناشی از *P. capsici* از طریق سویه‌ای از *S. rochei* به نام IT20 که قادر به تولید مقادیر زیاد SA (۱۹/۱میکروگرم‌درمیلی‌لیتر) است، گزارش شد. توانایی تولید سیدروفور این سویه نه‌تنها در غلظت‌های زیاد نمک و دماهای بیش از ۲۹ درجهٔ سانتی‌گراد مشاهده شد، در این شرایط افزایش نیز یافت. ازآنجاکه تغییرات دمایی و شوری خاک در شرایط گلخانه‌های خیار به‌وفور اتفاق می‌افتند، انتخاب عوامل کنترل زیستی و محرک رشد گیاهی که در دامنهٔ وسیع‌تری از تغییرات محیطی فعال باشند، ضروری است (۶). سویهٔ IC13 در شرایط آزمایشگاه از رشد هر سه عامل بیمارگر خیار ممانعت کرد؛ علاوه‌براین، بیشترین میزان تولید اکسین را در مقایسه با سایر سویه‌ها داشت، اما در دمای ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد و نمک ۱۳ درصد، فعالیت سیدروفوری و سلولازی این سویه کاهش یافت؛ این سویه در آزمایش گلخانه استفاده نشد. اگرچه سویهٔ IT25 روی محیط دارای نمک ۶ درصد افزایش رشد نشان داد و هالهٔ سیدروفوری آن نیز با افزایش درصد شوری افزایش یافت، نسبت به افزایش دما حساس بود و در دمای ۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد رشد نکرد. سویهٔ IT25 در شرایط گلخانه ویژگی‌های محرک رشدی نداشت؛ این سویه فعالیت آنزیم سلولازی ندارد و در شرایط درون شیشه‌ای تنها حدود ۵۰ درصد از رشد *P. capsici* ممانعت کرد و عملکرد خوبی در ارزیابی‌های گلخانه‌ای ازنظر ویژگی‌های کنترل زیستی روی بیماری نداشت. دو سویهٔ *SS14* و IT20 که قابلیت خوبی در کنترل بیماری و افزایش رشد گیاه داشتند، ویژگی‌های مشترکی مانند رشد در حضور نمک ۶ درصد، تولید سیدروفور و فعالیت سلولازی در شرایط گرمایی و شوری مختلف نشان دادند. عملکرد بهتر سویهٔ IT20 (نسبت به سویهٔ *SS14*) و عملکرد ضعیف سویهٔ IT25 را می‌توان به‌ترتیب با تحمل‌کردن و تحمل‌نکردن دمای زیاد (۴۲ درجهٔ سانتی‌گراد) و همچنین به‌ترتیب با افزایش فعالیت و نداشتن فعالیت سلولازی آنها در این دما مرتبط دانست؛ این نتایج به پژوهشگران برای انتخاب سریع‌تر سویه‌های کنترل زیستی محرک رشد کمک می‌کنند و هزینه‌های جداسازی و غربال‌گری را کاهش می‌دهند.

سپاسگزاری

از پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران برای فراهم‌کردن امکانات پژوهش حاضر مصوب با شمارهٔ ۱۲-۰۵-۰۵-۰۳۴-۰۹۴۵۴-۹۵۰۹۴۱ سپاسگزاری می‌شود.

References

(1) Abassi S., Safaie N., Shamsbakhsh M., Shahbazi S. Evaluation of antagonistic properties of *Trichoderma harzianum* mutants against some plant pathogenic fungi in vitro. *Plant protection* (*scientific journal of agriculture*) 2015; 37(4): 91-102.

(2) El-Tarabily KA., Nassar AH., Hardy GESJ., Sivasithamparam K. Plant growth promotion and biological control of *Pythium aphanidermatum*, a pathogen of cucumber, by endophytic actinomycetes. *Journal of Applied Microbiology* 2009; 106(1): 13-26.

(3) Babadoost M. Phytophthora blight: a serious threat to cucurbit industries. Available at: <*http://www.apsnet.org/online/feature/cucurbit/links.asp* 2004>

(4) Palaniyandi SA., Yang SH., Zhang L., Suh JW. Effects of actinobacteria on plant disease suppression and growth promotion. *Applied Microbiol Biotechnology* 2013; 97(22): 9621-9636.

(5) Gouda S., Kerry GR., Gitishree D., Paramithiotis S., Shin HS., Patra JK. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. *Microbiological Research* 2018: 206: 131-140.

(6) Sadeghi A., Koobaz P., Azimi H., Karimi E., Akbari AR. Plant growth promotion and suppression of *Phytophthora drechsleri* damping-off in cucumber by cellulase-producing *Streptomyces*. *BioControl* 2017; 62(6): 805-819.

(7) Sadeghi A., Karimi E., Dahaji PA., Javid MG., Dalvand Y., Askari H. Plant growth promoting activity of an auxin and siderophore producing isolate of *Streptomyces* under saline soil conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2012; 28(4): 1503-1509.

(8) Radhakrishnan M., Balaji S., Balagurunathan R. Thermotolerant actinomycetes from Himalayan Mountain-antagonistic potential, characterization and identification of selected strains. *Malaysian Applied Biology* 2007; 36(1): 59-65.

(9) Rodriguez R., Redman R. More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: plant stress tolerance via fungal symbiosis. *Journal of Experimental Botany* 2008; 59(5): 1109-1114.

(10) Zenova GM., Manucharova NA., Zvyagintsev DG. Extremophilic and extremotolerant actinomycetes in different soil types. *Eurasian Soil Science* 2011; 44(4): 417-436.

(11) Kamaly A., Ahmadzadeh M., Sadeghi A., Karimi E. Effect of exogenous ectoines on some antifungal activity of *Pseudomonas fluorescens* UTPF5 under salt conditions. *Biological Journal of microorganism* 2015; 5 (17): 35-48.

(12) Davis BD., Diorky SL. *Tratado de microbiología*. 2nd ed. São Paulo: Manole; 1996.

(13) Karimi A., Sadeghi A. Study on optimum growth condition and designing formulation for increasing shelf life of *Streptomyces rimosus* strain C-2012 as biocontrol agent. *Biological Journal of Microorganism* 2014; 4(15): 109-122.

(14) Abbasi A., Safaie N., Sadeghi A., Shams-bakhsh M. *Streptomyces* strains induce resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in tomato through different molecular mechanisms. *Frontiers in Microbiology* 2019, 01505.

(15) Thampi A., Bhai RS. Rhizosphere actinobacteria for combating *Phytophthora capsici* and *Sclerotium rolfsii*, the major soil borne pathogens of black pepper (*Piper nigrum* L.). *Biological Control* 2017; 109: 1-13.

(16) Kunova A., Bonaldi M., Saracchi M., Pizzatti C., Chen X., Cortesi P. Selection of *Streptomyces* against soil borne fungal pathogens by a standardized dual culture assay and evaluation of their effects on seed germination and plant growth. *BMC Microbiology* 2016; 16: 272.

(17) Starr MP., Stolp H., Trüper HG., Balons A., Schlegel HG. *The Prokaryotes: A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria*. 2nd ed. Berlin: Springer Verlag; 1992.

(18) Alexander DB., Zuberer DA. Use of chrome azurol S reagents to evaluate

siderophore production by rhizosphere bacteria. *Biology and Fertility of Soil* 1991; 12(1): 39-45.

(19) Majidi S., Roayaei M., Ghezelbash G. Carboxymethyl-cellulase and filter-paperase activity of new strains isolated from Persian Gulf. *Microbiology Journal* 2011; 1(1): 8-16.

(20) Meyer JM., Abdallah MA. The fluorescent pigment of *Pseudomonas fluorescens*: biosynthesis, purification and physicochemical properties. *Journal of General Microbiology* 1978; 107(2): 319-328.

(21) Meyer JM., Azelvandre P., Georges C. Iron metabolism in *Pseudomonas*: Salicylic acid, a siderophores of *Pseudomonas fluorescens* CHAO. *Biofactors* 1992; 4(1): 23-27.

(22) Naureen Z., Price AH., Hafeez FY., Roberts MR. Identification of rice blast disease-suppressing bacterial strains from the rhizosphere of rice grown in Pakistan. *Crop Protection* 2009; 28(12): 1052-1060.

(23) Huang Y., Xiao L., Li F., Xiao M., Lin D., Long X., Wu Z. Microbial degradation of pesticide residues and an emphasis on the degradation of cypermethrin and 3-phenoxy benzoic acid: A review. *Molecules* 2018; 23(9): 2313.

(24) El-Sayed MA., Valadon LRG., El-Shanshoury A. Biosynthesis and metabolism of indole-3-acetic acid in Streptomyces mutabilis and *Streptomyces atroolivaceus*. *Microbiology Letters* 1987; 36: 85-95.

(25) Manulis S., Epstein E., Shafrir H., Lichter A., Barash I. Biosynthesis of indole-3-acetic acid via the indole-3-acetamide pathway in *Streptomyces* spp. *Microbiology* 1994; 140(5): 1045-1050.

(26) El-Tarabily KA. Promotion of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant growth by rhizosphere competent 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase-producing *streptomyces* actinomycetes. *Plant Soil* 2008; 308(1-2): 161-174.

(27) Chen C., Belanger RR., Benhamou N., Paulitz TC. Role of salicylic acid in systemic resistance induced by *Pseudomonas* spp. against *Pythium aphanidermatum* in cucumber roots. *European Journal of Plant Pathology* 1999; 105(5): 477-486.

(28) Zamani E., Sanjarian F., Mohammadi-goltapeh E., Safaie N. Effects of salicylic acid on the growth and pathogenicity of *Zymoseptoria tritici*. *Biological Journal of Microorganism* 2019; 7(28): 53-62.

(29) Bakker PAHM., Ran LX., Mercado-Blanco J. Rhizobacterial salicylate production provokes headaches! *Plant and Soil* 2014; 382(1-2): 1-16.

(30) Meyer GD., Hofte M. Salicylic Acid Produced by the Rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 Induces Resistance to Leaf Infection by *Botrytis cinerea* on Bean. *Phytopathology* 1997; 87(6): 588-593.

---

[1]- *Streptomyces*
[2]- Phytohormones
[3]- Siderophore
[4]- microorganisms
[5]- Oomycetes
[6]- PGPR
[7]- Osmolite
[8]- Potato Dextrose Agar
[9]- Control
[10]- International Streptomyces Project media 2
[11]- Salicylic acid
[12]- Volatile metabolites
[13]- Extracellular culture extracts
[14]- Positive control
[15]- Meyer
[16]- Hofte