

Effect of fungal and bacterial biological agent against bean common blight caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *Phaseoli*

Fatemeh Derikvand

Ph.D. Student of Plant Protection, University of Lorestan, Lorestan, Iran, fatemehderikvand93@gmail.com

Eidi Bazgir*

Assistant Professor of Plant Protection, University of Lorestan, Lorestan, Iran, bazgire14@gmail.com

Hossein Mirzaei-najafgholi

Ph.D. of Plant Protection, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran, mirzaeih89@gmail.com

Abstract

Introduction: The bean common blight caused by *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* is one of the most important pathogens of bean, which is a serious problem to produce this crop in western regions of the country. Due to the severe damage of this pathogen, using fungal and bacterial bio-control agents can be as an efficient way to reduce the damage of disease on bean. The aim of this study was to evaluate the controller effects of fungal and bacterial biological agents including *Trichoderma harzianum*, *T. virens*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescence* in laboratory and greenhouse conditions on bacteria of bean common blight.

Materials and methods: In order to study the effects of biological agent against Xap, in the first stage, was to investigate the percentage growth inhibition of Xap by biological agents under laboratory conditions. In the next step, the interaction of biological agent and pathogenesis bacteria on bean plant was evaluated in a completely randomized design, four replications and biological agent's treatments are under the greenhouse conditions. Indices such as root and shoot fresh weight, root and shoot dry weight, height roots and stems of beans and disease severity were measured to analyse the control power of the biological agents.

Results: In laboratory conditions, fungal biological agents of *T. harzianum* with an average diameter of inhibitor halo of 42 mm and inhibiting 56.67% of the growth had highest controller effect on pathogenesis bacteria. However, in greenhouse conditions, *P. fluorescence* bacteria had better performance and all plant indices under this treatment showed a significant growth. The combined treatment of *P. fluorescence* + *T. virens* was the best treatment in this experiment with reducing 79.4% of disease symptoms. Treatments *P. fluorescence*+*T. harzianum* and *B. subtilis*+*P. fluorescence* with amount of 69.6 and 55.9% reduced the symptoms, respectively, and are in following levels.

Discussion and conclusion: Therefore, the use of biological agents can largely reduce the bean common blight, so that it can be an efficient and environmentally friendly method used.

Key words: Biological control, Bean, *Pseudomonas*, *Basillus*, *Trichoderma*, *Xanthomonas*

* Corresponding author

Received: May 14, 2016 / Accepted: May 20, 2017

تأثیر عوامل زیستی قارچی و باکتریایی بر سوختگی معمولی لوبیا ناشی از زانتوموناس اگزانونپودیس پتوار فائزئولی

فاطمه دریکوند: دانشجوی دکتری گیاه‌پزشکی، دانشگاه لرستان، ایران، fatemehderikvand93@gmail.com
عیدی بازگیر*: استادیار گیاه‌پزشکی، دانشگاه لرستان، ایران، bazgire14@gmail.com
حسین میرزایی نجفقلی: دکتری گیاه‌پزشکی، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران، mirzaei89@gmail.com

چکیده

مقدمه: سوختگی معمولی لوبیا با *زانتوموناس اگزانونپودیس* پتوار فائزئولی یکی از مهم‌ترین بیماری‌های لوبیاست که تولید این محصول را در مناطق غربی کشور با مشکل جدی روبه‌رو کرده است. با توجه به خسارت شدید این بیمارگر، استفاده از عوامل بیوکنترل قارچی و باکتریایی، روش کارآمدی برای کاهش خسارت این بیماری به گیاه لوبیاست. هدف پژوهش حاضر، بررسی اثر کنترل‌کنندگی عوامل زیستی *تریکودرما هارزیانوم*، *تریکودرما ویرنس*، *باسیلوس سابیتیلیس* و *سودوموناس فلوئروسنس* در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه روی باکتری عامل سوختگی معمولی لوبیاست.

مواد و روش‌ها: برای بررسی اثر عوامل زیستی روی باکتری *زانتوموناس آکسانوپودیس* پتوار فائزئولی (Xap)، ابتدا درصد بازدارندگی از رشد باکتری Xap توسط عوامل بیوکنترل در شرایط آزمایشگاه بررسی شد. سپس برهم‌کنش این عوامل زیستی با عامل بیماری‌زا روی گیاه لوبیا در قالب طرح کاملاً تصادفی، در ۴ تکرار و با تیمارهای زیستی در شرایط گلخانه سنجیده شد. شاخص‌هایی نظیر وزن تر ریشه و ساقه، وزن خشک ریشه و ساقه، ارتفاع اندام‌های هوایی و زمینی گیاه و شدت بیماری برای بررسی قدرت کنترل‌کنندگی عوامل زیستی اندازه‌گیری شدند.

نتایج: در شرایط آزمایشگاهی، قارچ *تریکودرما هارزیانوم* با میانگین قطر هاله بازدارنده ۴۲ میلی‌متر و ۵۶/۶۷ درصد بازدارندگی از رشد، بیشترین اثر کنترل‌کنندگی را روی باکتری بیماری‌زا داشت. در شرایط گلخانه، باکتری *سودوموناس فلوئروسنس* بهتر عمل کرد و تمام شاخص‌های گیاهی بر اثر این تیمار، رشد معناداری داشتند. تیمار ترکیبی *سودوموناس فلوئروسنس* به اضافه *تریکودرما ویرنس* با کاهش ۷۹/۴ درصدی نشانه‌های بیماری، بهترین تیمار این آزمایش بود. تیمارهای *سودوموناس فلوئروسنس* به اضافه *تریکودرما هارزیانوم* و *سودوموناس فلوئروسنس* به اضافه *باسیلوس سابیتیلیس* به ترتیب با میانگین ۶۹/۶ و ۵۵/۹ درصد کاهش نشانه‌ها در رتبه‌های بعدی قرار دارند.

بحث و نتیجه‌گیری: استفاده از عوامل زیستی موجود، بیماری سوختگی معمولی لوبیا را تا حد زیادی کاهش می‌دهد و روشی کارآمد و سازگار با محیط‌زیست است.

واژه‌های کلیدی: کنترل زیستی، لوبیا، *سودوموناس*، *باسیلوس*، *تریکودرما*، *زانتوموناس*

* نویسنده مسئول مکاتبات

مقدمه

لوبیا گیاهی از تیره بقولات، با بیش از ۱۰۰ گونه و قدمتی در حدود ۸ هزار سال است که در بیشتر بخش‌های دنیا کشت می‌شود و بیشترین سطح زیرکشت در دنیا را در بین حبوبات دارد. ایران از نظر سطح زیرکشت این محصول با ۹۲ هزار هکتار پس از هند در رتبه دوم و از نظر میزان تولید لوبیا در جهان نیز در رتبه دوم قرار دارد (۱). این گیاه با داشتن ۲۰ تا ۲۵ درصد پروتئین و ۵۰ تا ۶۵ درصد کربوهیدرات، با ارزش‌ترین حبوبات از نظر خوراکی در سرتاسر دنیا است (۲). بیشترین میزان تولید لوبیای کشور با سهم ۳۰/۲ درصد به استان فارس تعلق دارد و استان‌های خوزستان با سهم ۱۵/۷ درصد و لرستان با سهم ۱۳/۵ درصد تولید لوبیا در کشور به ترتیب در رتبه‌های دوم و سوم قرار دارند (۳). این گیاه در افزایش ازت خاک نقش مؤثری ایفا می‌کند (۴).

هر ساله بیمارگرهای قارچی، باکتریایی، نماتودی و ویروسی به گیاه لوبیا حمله می‌کنند. در میان بیماری‌های باکتریایی لوبیا، بیماری سوختگی معمولی لوبیا اهمیت بسیاری دارد (۵) و از استان‌های مرکزی، لرستان، اصفهان و زنجان در ایران گزارش شده است (۶ و ۷). خسارت بیماری یادشده در مناطق مرطوب و مزارع با آبیاری بارانی بسیار زیاد و در شهرستان اراک تا ۸۰ درصد گزارش شده است (۸). بذر و بقایای گیاهی آلوده، زندگی اپی‌فیتی روی گیاهان غیرمیزبان و علف‌های هرز از جمله راه‌های مهم انتقال بیماری سوختگی معمولی لوبیا هستند. راهکارهای کنترل بیماری شامل استفاده از بذر سالم، تناوب زراعی و روش‌های مبارزه شیمیایی تأثیری در کنترل بیماری و افزایش عملکرد گیاه نداشته‌اند (۸). استفاده از سموم

شیمیایی نیز با وجود کاهش مؤثر بیماری‌ها، باعث آلودگی‌های زیست‌محیطی و ایجاد مقاومت در بیمارگر می‌شوند و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه نیستند (۹). با توجه به محدودیت‌های یادشده، استفاده از کنترل زیستی بیماری‌های گیاهی یکی از روش‌های جایگزین مناسب در این زمینه است (۹).

ریز موجودات زیستی استفاده‌شده در کنترل زیستی با اثر متقابل بر بیماری‌زاهای گیاهی مختلف، نقش عمده‌ای در کنترل بیماری‌ها بازی می‌کنند. در این بین، عوامل بیوکنترل باکتریایی جایگاه ویژه‌ای در کنترل زیستی عوامل بیماری‌زا دارند؛ گونه‌های باسیلوس ساب‌تیلیس^۱ و سودوموناس‌های فلورسنت^۲ موجود در ریزوسفر به عنوان عوامل بیوکنترل باکتریایی، نامزدهای ایده‌آلی برای افزایش رشد گیاه و کاهش بیماری‌های گیاهی در شرایط مزرعه و گلخانه هستند (۱۰). همچنین قارچ‌های تریکودرما در بیشتر خاک‌ها و زیستگاه‌ها وجود دارند و به علت توانایی تولید آنتی‌بیوتیک، کنترل‌کننده زیستی بسیاری از بیماری‌های گیاهی شناخته می‌شوند (۱۱). باکتری‌های باسیلوس و سودوموناس فلوروسنس نشانه‌های بیماری سوختگی معمولی لوبیا را به طور معناداری کاهش داده (۱۲) و این عوامل بیوکنترلی همراه با قارچ تریکودرما هارزیانوم^۳ روی باکتری اروینیا کاراتوورا^۴ نیز تأثیر کنترل‌کنندگی بسیاری داشته‌اند (۱۳).

با توجه به آثار کنترل‌کنندگی عوامل بیوکنترلی باسیلوس ساب‌تیلیس، سودوموناس فلوروسنس، تریکودرما هارزیانوم و تریکودرما ویرنس^۵ روی بیماری‌زاهای بیمارگر گیاهی، استفاده از روش‌های غیرشیمیایی و سالم در کنترل بیماری‌های گیاهی ضروری است. پژوهش حاضر با هدف بررسی ویژگی

کنترل کنندگی عوامل زیستی موجود در برابر باکتری زانتوموناس آگزائوپودیس پتوار فائزئولی (Xap)^۶ عامل سوختگی معمولی لوبیا انجام شده است.

مواد و روش‌ها

تهیه باکتری‌های بیمارگر و عوامل بیوکنترل: پژوهش حاضر، باکتری زانتوموناس آگزائوپودیس پتوار فائزئولی (Xap) تهیه شده از مجموعه بخش گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی شیراز و عوامل زیستی باکتریایی باسیلوس B7، سودوموناس فلوئروسنس CHAO و قارچی تریکودرما هارزیانوم T.BI و تریکودرما ویرنس T65 موجود در مجموعه بخش گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان استفاده شدند.

آزمون اثبات و برآورد شدت بیماری‌زایی: برای اثبات بیماری‌زایی باکتری Xap، از لوبیا چیتی رقم صدری استفاده شد. ابتدا بذرها با هیپوکلریت سدیم^۷ ۱/۵ درصد ضد عفونی سطحی و سپس در گلدان‌های پلاستیکی حاوی خاک مزرعه، کود دامی و شن (به نسبت ۱:۱:۲) کاشته شدند. پس از ۱۰ روز رشد در شرایط گلخانه و ظهور برگ‌های حقیقی، سه برگچه دوم بوته‌ها با باکتری Xap مایه‌زنی شدند. برای مایه‌زنی گیاهان، از کشت ۲۴ ساعته باکتری Xap روی محیط کشت مصنوعی مواد غذایی^۸ استفاده و سوسپانسیون^{۱۰} واحد

تشکیل دهنده کلنی در میلی‌لیتر^۹ به روش رقیق کردن متوالی^{۱۰} در آب مقطر سترون تهیه شد. سپس برگ‌های انتخاب شده برای مایه‌زنی با سوزن استریل زخمی و سوسپانسیون باکتری روی آنها اسپری شد. تیمار شاهد با آب مقطر استریل مایه‌زنی شد. بوته‌های مایه‌زنی شده برای حفظ رطوبت به مدت ۷۲ ساعت زیر پوشش پلاستیکی قرار گرفتند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل تیمارهای گیاه آلوده به باکتری Xap و گیاه سالم غیر آلوده (شاهد) و در ۴ تکرار انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن^{۱۱} در سطح ۱ درصد استفاده و شدت بیماری پس از ظهور نشانه‌های بیماری بر اساس مقیاس توصیه شده (جدول ۱) تعیین شد (۱۴).

برای بررسی شدت بیماری حاصل از باکتری Xap روی لوبیا در آزمون بیماری‌زایی و همچنین بر اثر عوامل زیستی، ابتدا به طور تصادفی ۸ برگ از هر گیاه انتخاب شد. سپس با سیستم نمره‌دهی، شدت بیماری گیاه لوبیا در برابر بیمارگر Xap با مقیاس ICTA تعیین و شدت بیماری سوختگی معمولی لوبیا بر اثر باکتری برای گیاهان، تکرارها و تیمارها از رابطه زیر محاسبه شد (۱۵).

$$DI = \frac{\text{مجموع کدهای اختصاص داده شده به برگ}}{\text{بزرگ‌ترین کدها} \times \text{مجموع برگ‌های مشاهده شده}} \times 100 \quad (\text{شدت بیماری})$$

جدول ۱- سیستم نمره‌دهی شدت بیماری گیاه لوبیا در برابر آلودگی به باکتری Xap با مقیاس ICTA^{۱۲}

نمره	نشانه‌ها
۱	بدون نشانه‌های بیماری
۳	لکه‌های کوچک تقریباً ۲ درصد سطح برگ را پوشانده‌اند، بیشتر غلاف‌ها بدون نشانه‌های بیماری هستند.
۵	لکه‌های کوچک تقریباً ۵ درصد سطح برگ را پوشانده‌اند و لکه‌ها شروع به پیوستن کرده‌اند.
۷	لکه‌های متوسط و بزرگ تقریباً ۱۰ درصد سطح برگ را پوشانده‌اند و به طور معمول با هاله زرد رنگ و سوختگی همراه هستند. لکه‌های روی غلاف بزرگ و به هم ملحق شده‌اند و ترشحات باکتری روی آن دیده می‌شود.
۹	لکه‌های بزرگ بیش از ۲۵ درصد سطح برگ را پوشانده‌اند، برگ‌ها سوخته‌اند و ممکن است ریزش کنند.

محیط NA قرار داده شد. سوسپانسیون باکتری بیماری‌زا با غلظت 10^8 واحد تشکیل‌دهنده کلنی در میلی‌لیتر روی محیط کشت مواد غذایی^{۱۳} اسپری پاشی و هاله بازدارندگی آنها پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت ارزیابی شد. درصد بازدارندگی از رشد از رابطه زیر با تغییرات جزئی محاسبه شد (۱۷):

$$\text{درصد بازدارندگی از رشد} = \frac{(\text{قطر پتری} - \text{قطر ناحیه کرده باکتری})}{\text{قطر پتری}} \times 100$$

بررسی تأثیر عوامل زیستی باکتریایی در شرایط گلخانه روی باکتری Xap: در این آزمایش، از گیاهچه‌های لویا رقم صدری در مرحله ظهور برگ‌های حقیقی استفاده شد. برای بررسی تأثیر عوامل بیوکنترل بر شدت بیماری‌زایی باکتری سوختگی معمولی لویا (Xap) در شرایط گلخانه، سوسپانسیونی از باکتری‌های زیستی به غلظت 10^8 واحد تشکیل‌دهنده کلنی در میلی‌لیتر و سوسپانسیون قارچ تریکودرما به غلظت 10^6 اسپور در میلی‌لیتر تهیه شد. ابتدا عوامل آنتاگونیست تا مرحله جاری شدن آب از سطح برگ‌ها (مرحله سه برگچه دوم بوته‌ها) روی گیاه اسپری شدند. در تیمار شاهد از آب مقطر استریل به جای سوسپانسیون عوامل بیوکنترل استفاده شد. پس از گذشت ۷۲ ساعت، سوسپانسیون باکتری بیماری‌زا روی گیاه اسپری و روی آنها به مدت ۷۲ ساعت برای تأمین رطوبت پلاستیک کشیده شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۶ تیمار (جدول ۲) و در ۴ تکرار (هر تکرار شامل ۴ گیاه لویا در یک گلدان) انجام شد. پس از پایان دوره رشدی گیاه و عبور از مرحله حساس، شاخص‌های گیاهی از جمله شدت بیماری‌زایی بیماری‌زا روی گیاه، وزن تر و خشک، ارتفاع ریشه و ساقه برای تعیین تأثیر عامل بیماری‌زا روی گیاه لویا اندازه‌گیری و با نرم‌افزار SPSS 19 تحلیل آماری شدند.

بررسی تأثیر عوامل زیستی در شرایط آزمایشگاه روی

باکتری Xap: برای بررسی اثر ضد باکتریایی عوامل زیستی باکتریایی از روش‌های زیر استفاده شد:

(الف) در این روش، ابتدا سوسپانسیون 10^8 واحد تشکیل‌دهنده کلنی در میلی‌لیتر Xap با محیط کشت M9 مخلوط و در تشتک‌های پتری ریخته شد. پس از جامدشدن محیط کشت، باکتری‌های زیستی باسیلوس سابتیلیس و سودوموناس فلوئروسنس به شکل نقطه‌ای کشت شدند و پس از ۲۴ ساعت، قطر هاله بازدارنده از رشد Xap ایجادشده توسط دو باکتری زیستی اندازه‌گیری شد. در این آزمون برای تیمار شاهد از دیسک‌های حاوی آب مقطر به جای عوامل بیوکنترل استفاده شد (۱۶).

(ب) در این روش، باکتری‌های باسیلوس سابتیلیس، سودوموناس فلوئروسنس به شکل لکه‌ای در تشتک‌های حاوی محیط کشت تلقیح شدند. پس از ۴۸ ساعت نگهداری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، کلنی‌های رشد کرده دو باکتری یادشده با پنبه استریل آغشته به الکل از سطح تشتک پتری پاک شدند. سپس روی در هر پتری دو قطره کلروفرم اضافه و ۲۰ دقیقه به شکل وارونه نگهداری شد. سپس در شرایط استریل، در تشتک پتری‌ها باز و ۳۰ دقیقه هوادهی شدند. پس از آن، از سوسپانسیون باکتری بیماری‌زا (Xap) با غلظت 10^8 واحد تشکیل‌دهنده کلنی در میلی‌لیتر در هر پتری اسپری پاشی و ۷۲ ساعت در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. در نهایت، قطر هاله بازدارندگی از رشد Xap اندازه‌گرفته شد. در این آزمایش، برای تیمار شاهد به جای باکتری‌های بیوکنترل از آب مقطر استریل استفاده شد (۱۶).

برای بررسی اثر ضد باکتریایی عوامل قارچی، پرگنه‌ای از کشت ۳ تا ۴ روزه قارچ‌های زیستی در وسط

جدول ۲- نقشه طرح آماری کنترل زیستی بیماری Xap با استفاده از باکتری های بیوکنترل

کد تیمار	ویژگی های تیمار	کد تیمار	ویژگی های تیمار
-A	شاهد منفی	Th	تری کودرما هارزیانوم
+A	شاهد مثبت	Tv	تری کودرما ویرنس
Abs	باسیلوس سابتیلیس (شاهد)	Th+Tv	تری کودرما هارزیانوم + تری کودرما ویرنس
APf	سودوموناس فلوتروسنس (شاهد)	Th+Pf	تری کودرما هارزیانوم + سودوموناس فلوتروسنس
ATh	تری کودرما هارزیانوم (شاهد)	Th+Bs	تری کودرما هارزیانوم + باسیلوس سابتیلیس
ATv	تری کودرما ویرنس (شاهد)	Tv+Pf	تری کودرما ویرنس + سودوموناس فلوتروسنس
Bs	باسیلوس سابتیلیس	Tv+Bs	تری کودرما ویرنس + باسیلوس سابتیلیس
Pf	سودوموناس فلوتروسنس	Bs+Pf	باسیلوس سابتیلیس + سودوموناس فلوتروسنس

نتایج

بیماری زایی باکتری Xap روی گیاه لوبیا: نتایج

بیماری زایی باکتری Xap روی گیاه لوبیا، ظاهر شدن نشانه های بیماری سوختگی معمولی لوبیا بر اثر این باکتری را به شکل لکه های آب سوخته ۱۰ روز بعد از مایه زنی نشان دادند. از نخستین نشانه های بیماری روی گیاه، پیدایش لکه های آب سوخته بود که این لکه ها به تدریج گسترش یافتند، به هم پیوستند و سطح وسیعی از برگ را در بر گرفتند و برگ حالت سوخته پیدا کرد. هاله ای زرد رنگ اطراف نواحی آب سوخته ۲۱ روز بعد

از مایه زنی باکتری عامل بیماری ظاهر شد (شکل ۱). نشانه های بیماری روی ساقه به شکل لکه های تیره و روی غلاف به شکل لکه های مدور قرمز تا قهوه ای تیره مشاهده شدند (شکل ۲). بیشترین نشانه ها در مرحله گل دهی ظاهر شدند؛ در این مرحله (پس از ۲۱ روز) شدت نشانه های بیماری تا سطح ۸۰ درصد نیز رسید و سپس نشانه ها با ظهور برگ های جدیدتر به مرور کاهش یافتند.



شکل ۱- نشانه های بیماری سوختگی معمولی لوبیا؛ الف. سوختگی برگ های گیاه لوبیای آلوده به Xap، ب. کلروز شدید روی برگ با هاله زرد رنگ، ج. نشانه های بیماری سوختگی معمولی لوبیا روی غلاف به شکل لکه های مدور قرمز تا قهوه ای تیره

تأثیر عوامل زیستی باکتریایی و قارچی بر رشد

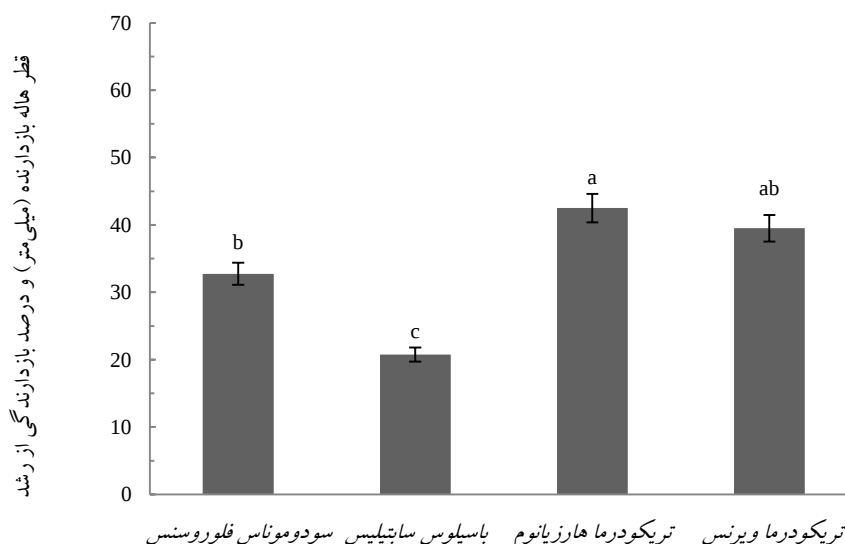
باکتری Xap روی محیط کشت: تجزیه واریانس، تأثیر عوامل زیستی باکتریایی و قارچی بر رشد باکتری Xap را روی محیط کشت نشان داد. رشد باکتری Xap در حضور عوامل زیستی در سطح ۱ درصد کاهش معناداری یافت. عامل بیوکنترلی *تریکودرما هارزیانوم* با میانگین قطر هاله بازدارنده ۴۲ میلی‌متر و به میزان ۵۶/۶۷ درصد، بیشترین آثار بازدارندگی از رشد را در بین عوامل زیستی استفاده‌شده داشت و تفاوت معناداری در سطح ۱ درصد با دیگر عوامل زیستی بجز *تریکودرما ویرنس* نشان داد. اگرچه تیمارهای زیستی باکتریایی تأثیر بازدارندگی معناداری ایجاد کردند، نسبت به عوامل زیستی قارچی تأثیر کمتری در بازدارندگی از رشد باکتری Xap روی محیط کشت داشتند (شکل ۲).

عوامل بیوکنترل قارچی طی ۴۸ ساعت پس از رشد، هاله بازدارنده از رشد باکتری Xap را در اطراف پرگنه خود تشکیل دادند که قطر این هاله بیشتر از عوامل

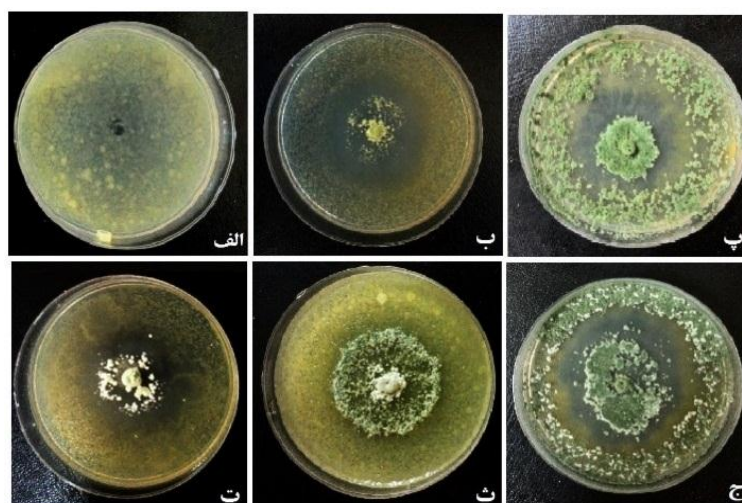
زیستی باکتریایی بود. به مرور قارچ *تریکودرما* رشد کرد و با افزایش جمعیت و رشد پرگنه خود روی محیط کشت و کلنی‌های باکتری Xap، این باکتری‌ها را پوشش داد و از بزرگ‌شدن و رشد کلنی باکتری بیمارگر در ناحیه هاله بازدارنده جلوگیری کرد. طی ۳ تا ۴ روز، پرگنه‌های قارچ *تریکودرما* سرتاسر محیط کشت را فرا گرفتند (شکل‌های ۳ و ۴).

تأثیر عوامل زیستی بر شدت بیماری سوختگی

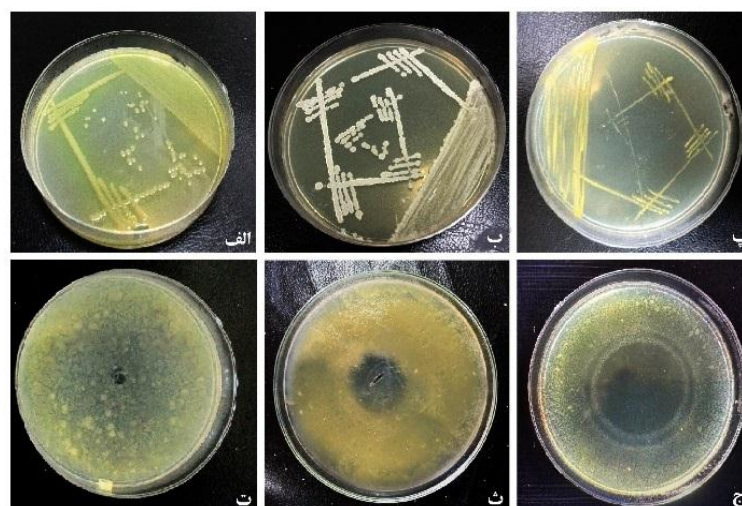
معمولی در لوییا: تجزیه واریانس نتایج تأثیر عوامل زیستی قارچی و باکتریایی روی گیاه لوییا آلوده به باکتری Xap نشان داد که شدت بیماری و شاخص‌های گیاهی شامل ارتفاع بوته، وزن تر و خشک اندام هوایی در سطح ۱ درصد، ارتفاع و وزن خشک ریشه در سطح ۵ درصد تفاوت معناداری نسبت به یکدیگر نشان می‌دهند و اثر تیمارها بر طول ریشه تفاوت معناداری ندارد (جدول ۳).



شکل ۲- تأثیر عوامل بیوکنترل قارچی و باکتریایی در رشد باکتری Xap روی محیط کشت مواد غذایی



شکل ۳- تأثیر عوامل بیوکنترل قارچی روی باکتری Xap؛ الف. پتری شاهد ب. هاله بازدارنده قارچ تریکودرما هارزیانوم، پ. پوشش دادن کلنی باکتری Xap با پرگنه‌های قارچ تریکودرما هارزیانوم، ت. هاله بازدارنده قارچ تریکودرما ویرنس، ث و ج. پوشش دادن کلنی باکتری Xap با پرگنه‌های قارچ تریکودرما ویرنس



شکل ۴- تأثیر باکتری‌های زیستی روی باکتری بیمارگر گیاهی Xap؛ الف. کلنی باکتری سودوموناس فلوتروسنس، ب. کلنی باکتری باسیلوس سابتیلیس، پ. کلنی باکتری Xap، ت. پتری شاهد، ث. هاله بازدارنده باسیلوس سابتیلیس، ج. هاله بازدارنده سودوموناس فلوتروسنس

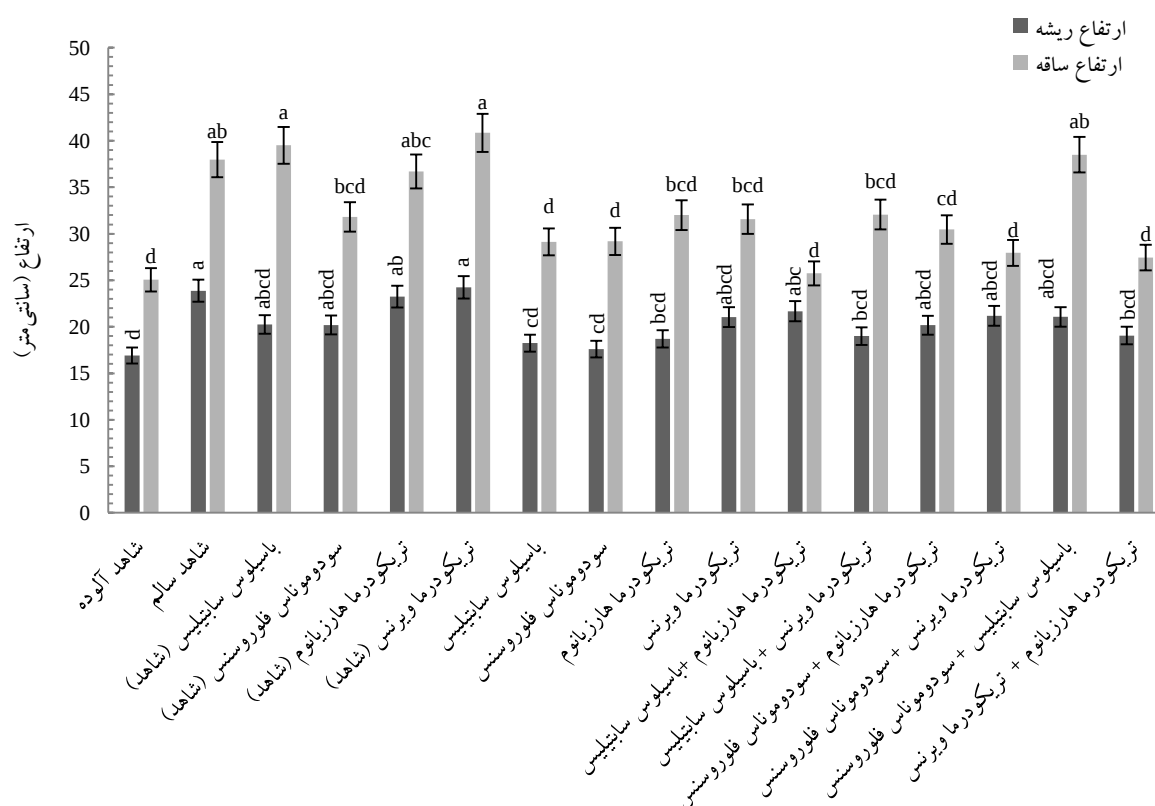
جدول ۳- تجزیه واریانس تأثیر عوامل زیستی مختلف بر گیاه لوبیای آلوده به باکتری Xap

شدت بیماری	وزن خشک		وزن تر		طول		درجه آزادی	منابع تغییرات
	ساقه	ریشه	ساقه	ریشه	ساقه	ریشه		
۲۹۰۵/۶۱**	۰/۲۳**	۰/۰۰۶*	۷/۷۲**	۰/۰۷ ^{ns}	۱۰۰/۴۷**	۱۸/۴۷*	۱۵	تیمار
۸۱/۴۶	۰/۰۳	۰/۰۰۲	۱/۱۵	۰/۰۵	۹۸/۸۷	۳/۷۱	۳	تکرار
۴۹/۷۳	۰/۰۳	۰/۰۰۳	۱/۰۹	۰/۰۴	۱۲/۲۱	۷/۵۷	۴۵	خطا
۲۱/۵۲	۲۱/۱۴	۹/۷۹	۱۸/۹۳	۱۸/۳۱	۱۰/۸۳	۱۳/۴۷	-	ضریب تغییرات

** سطح معناداری $P < 0.01$ ، * سطح معناداری $0.05 < P < 0.1$ ، معنادار نشدن $P > 0.05$

سطح ۵ درصد با تیمار آلوده نشان داد. این تیمار با شاهد غیر آلوده (سالم) تفاوت معناداری در سطح ۱ درصد نشان نداد. ارتفاع ساقه لوبیای آلوده به باکتری Xap در حضور تیمارهای زیستی ترکیبی باسیلوس سابیلیس به اضافه سودوموناس فلوروسنس افزایش درخور توجهی نشان داد. ارتفاع ساقه در گیاهان آلوده بر اثر این تیمار به‌طور میانگین ۳۸/۵ سانتی‌متر بود و بیش از ۶۵ درصد ارتفاع ساقه گیاه آلوده به باکتری Xap را افزایش داد و بهترین تیمار در افزایش این شاخص گیاهی بود. این تیمار زیستی در سطح ۱ درصد نسبت به تیمار شاهد سالم تفاوت معناداری نشان نداد ولی با تیمار شاهد آلوده تفاوت معناداری ایجاد کرد (شکل ۵).

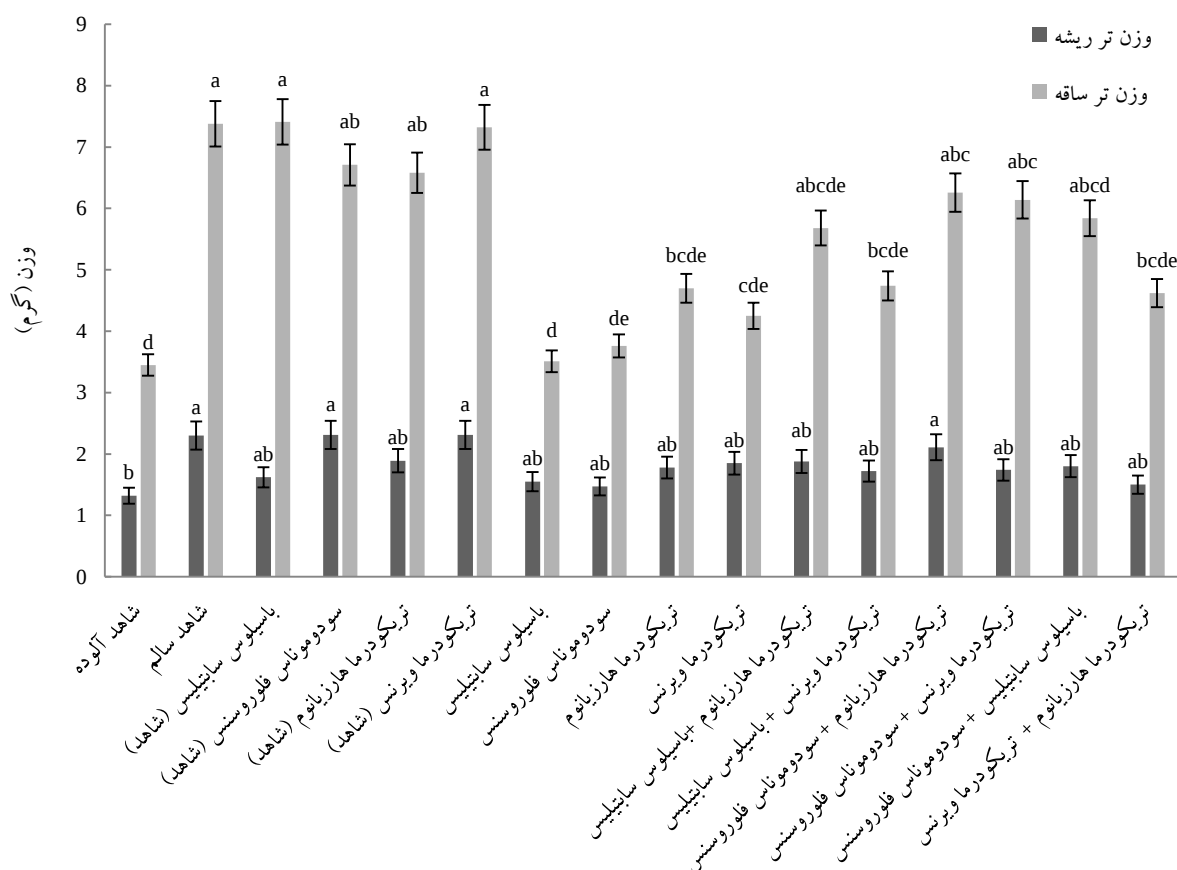
مقایسه میانگین طول ساقه و ریشه گیاه لوبیای آلوده به باکتری Xap بر اثر عوامل زیستی قارچی و باکتریایی نشان داد که طول ریشه و ساقه گیاه لوبیا بر اثر این باکتری بیمارگر به ترتیب ۲۹/۱۶ و ۳۳/۹۸ درصد کاهش یافته است و نسبت به تیمار شاهد سالم تفاوت معناداری در سطح ۱ درصد نشان می‌دهد. کاربرد عوامل زیستی تأثیر بسزایی در افزایش دو شاخص گیاهی یادشده دارند و همه ترکیب‌های استفاده‌شده در پژوهش حاضر باعث افزایش طول ریشه و ساقه گیاه لوبیای آلوده به Xap شدند. در بین عوامل زیستی، کاربرد ترکیبی تریکودرما هارزانیوم به اضافه باسیلوس سابیلیس با ۲۱/۶۶ سانتی‌متر طول ریشه لوبیای آلوده به Xap، بیشترین اثر را بر افزایش این شاخص گیاهی داشت و تفاوت معناداری در



شکل ۵- تأثیر عوامل زیستی بر طول ریشه و ساقه بوته‌های لوبیای آلوده به باکتری Xap

مقایسه با اندام زمینی بر اثر تیمارهای زیستی، تغییرات بیشتری را نشان دادند و تیمارهای سودوموناس فلئوروسنس به اضافه تریکودرما هارزینوم، سودوموناس فلئوروسنس به اضافه تریکودرما ویرنس و سودوموناس فلئوروسنس به اضافه باسیلوس سابیلیس بیشترین تأثیر را بر افزایش این شاخص گیاهی داشتند. این تیمارها به ترتیب با میانگین ۶/۲۷، ۶/۱۴ و ۵/۸۴ گرم وزن تر ریشه، بهترین تیمارهای آزمایش حاضر بودند که با تیمار شاهد آلوده تفاوت معناداری در سطح ۱ درصد ایجاد کردند (شکل ۶).

تأثیر کاربرد عوامل زیستی بر وزن ریشه گیاهان آلوده به باکتری سوختگی معمولی لوبیا نشان داد که بیشتر تیمارهای استفاده شده در پژوهش حاضر باعث افزایش وزن تر ریشه شده‌اند ولی این افزایش به اندازه‌ای نبوده است که تفاوت معناداری با تیمار آلوده نشان دهد. در بین تیمارهای زیستی، تیمار ترکیبی سودوموناس فلئوروسنس به اضافه تریکودرما هارزینوم افزایش رشد بیشتری در شاخص گیاهی یاد شده نشان داد و با میانگین وزن ۱/۲۷ گرم، تفاوت معناداری در سطح ۵ درصد با تیمار شاهد آلوده نشان داد (شکل ۶). مقایسه میانگین داده‌های وزن تر اندام‌های هوایی در

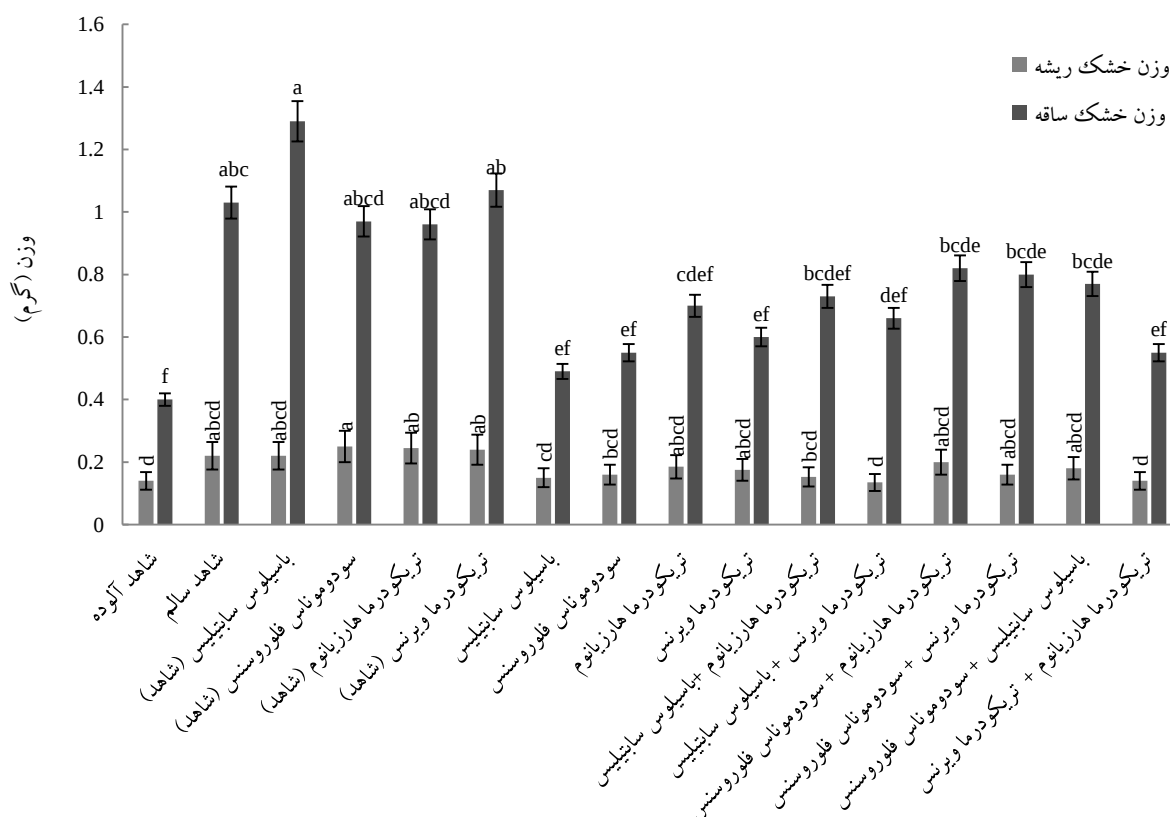


شکل ۶- تأثیر عوامل زیستی بر وزن تر ریشه و ساقه گیاه لوبیای آلوده به باکتری عامل سوختگی معمولی

هارزیانوم تفاوت معنادار مشاهده شد.

تأثیر عوامل زیستی بر افزایش وزن خشک اندام‌های هوایی لوبیا بیشتر مشهود بود. تیمارهای ترکیبی سودوموناس فلوتروسنس به اضافه تریکودرما هارزیانوم، سودوموناس فلوتروسنس به اضافه تریکودرما ویرنس و سودوموناس فلوتروسنس به اضافه باسیلوس سابیلیس به ترتیب با میانگین ۰/۸۲، ۰/۷۹ و ۰/۷۷ گرم وزن خشک اندام هوایی، برترین تیمارهای استفاده‌شده در بهبود این شاخص گیاهی بودند و در سطح ۱ درصد با تیمار شاهد آلوده تفاوت معناداری داشتند، هرچند با تیمار شاهد غیر آلوده تفاوت معناداری نشان ندادند (شکل‌های ۷ و ۸ و جدول ۴).

تأثیر تیمارها بر وزن خشک ریشه گیاه لوبیای آلوده به باکتری بیمارگر Xap همانند وزن تر ریشه تغییرات زیادی نشان نداد. اگرچه برخی تیمارهای عوامل زیستی باعث افزایش این شاخص گیاهی شدند، تأثیر معناداری نداشتند. تنها نکته شایان توجه در تغییرات این شاخص، افزایش معنادار وزن خشک ریشه تیمارهای غیر آلوده آغشته‌شده با عوامل زیستی نسبت به گیاهان آلوده به بیماری سوختگی معمولی بود. وزن خشک ریشه گیاه لوبیا بر اثر باکتری بیماری‌زای Xap در شاهد سالم و آلوده در سطح ۵ درصد تفاوت معناداری نشان نداد، هرچند در سطح ۵ درصد بین تیمار شاهد آلوده با تیمارهای سالم تلقیح‌شده با عوامل زیستی تریکودرما ویرنس، سودوموناس فلوتروسنس و تریکودرما



شکل ۷- تأثیر عوامل زیستی مختلف بر وزن خشک گیاه لوبیای آلوده به باکتری عامل سوختگی معمولی



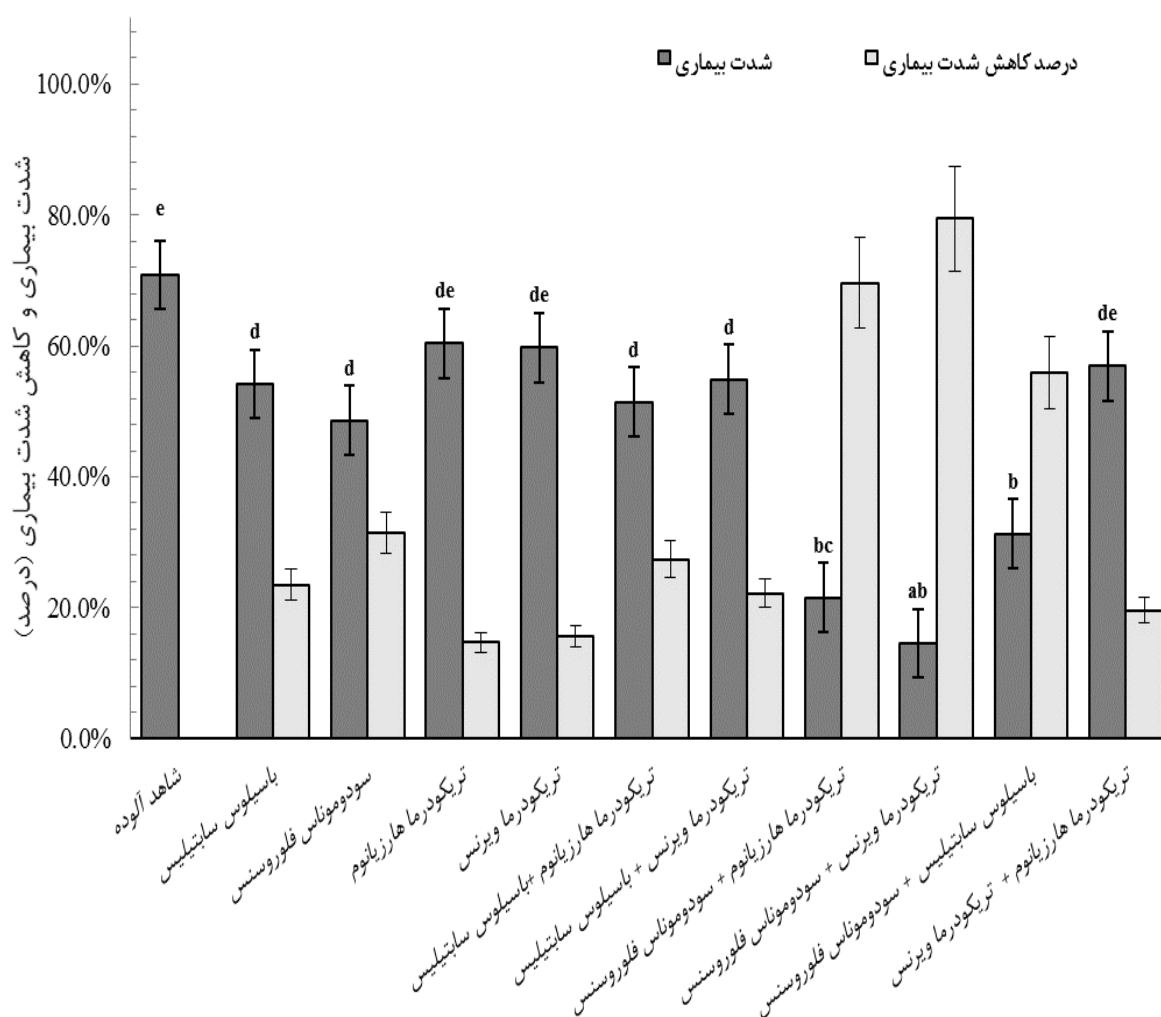
شکل ۸- تأثیر عوامل زیستی بر گیاه لوبیای آلوده به باکتری عامل سوختگی معمولی؛ الف. شاهد غیر آلوده، ب. شاهد آلوده، پ. تیمار باسیلوس سابیتیلیس، ت. تیمار سودوموناس فلوروسنس، ث. تیمار تریکودرما هارزیانوم، ج. تیمار تریکودرما ویرنس

جدول ۴- تأثیر عوامل زیستی بر گیاه آلوده به باکتری عامل سوختگی معمولی لوبیا

شدت بیماری (درصد)	وزن خشک (گرم)		وزن تر (گرم)		طول (سانتی متر)		تیمارهای مختلف زیستی
	ساقه	ریشه	ساقه	ریشه	ساقه	ریشه	
۷۰/۸۳ ^e	۰/۴۰ ^f	۰/۱۴ ^b	۳/۴۵ ^e	۱/۳۲ ^b	۲۵/۰۶ ^d	۱۶/۹۱ ^d	شاهد آلوده
۰/۰۰ ^a	۱/۰۳ ^{abc}	۰/۲۲	۷/۳۸ ^a	۲/۳۰ ^a	۳۷/۹۶ ^{ab}	۲۳/۳۸ ^a	شاهد سالم
۰/۰۰ ^a	۱/۲۹ ^a	۰/۲۲	۷/۴۱ ^a	۱/۶۲ ^{ab}	۳۹/۵۰ ^a	۲۰/۲۵ ^{abcd}	باسیلوس سابیتیلیس (شاهد)
۰/۰۰ ^a	۰/۹۷ ^{abcd}	۰/۲۵ ^a	۶/۷۱ ^{ab}	۲/۳۱ ^a	۳۱/۸۱ ^{bcd}	۲۰/۱۹ ^{abcd}	سودوموناس فلوروسنس (شاهد)
۰/۰۰ ^a	۰/۹۶ ^{abcd}	۰/۲۵ ^a	۶/۵۸ ^{ab}	۱/۸۹ ^{ab}	۳۶/۶۹ ^{abc}	۲۳/۲۵ ^{ab}	تریکودرما هارزیانوم (شاهد)
۰/۰۰ ^a	۱/۰۷ ^{ab}	۰/۲۴ ^a	۷/۳۲ ^a	۲/۳۱ ^a	۴۰/۸۵ ^a	۲۴/۲۳ ^a	تریکودرما ویرنس (شاهد)
۵۴/۱۷ ^d	۰/۴۹ ^{ef}	۰/۱۵ ^b	۳/۵۱ ^e	۱/۵۵ ^{ab}	۲۹/۱۲ ^d	۱۸/۲۵ ^{cd}	باسیلوس سابیتیلیس
۴۸/۶۱ ^d	۰/۵۵ ^{ef}	۰/۱۶ ^{ab}	۳/۷۶ ^{de}	۱/۴۷ ^{ab}	۲۹/۱۸ ^d	۱۷/۶۰ ^{cd}	سودوموناس فلوروسنس
۶۰/۴۲ ^{de}	۰/۷۰ ^{cdef}	۰/۱۸ ^{ab}	۴/۷۰ ^{bcde}	۱/۷۸ ^{ab}	۳۲/۰۰ ^{bcd}	۱۸/۶۹ ^{bcd}	تریکودرما هارزیانوم
۵۹/۷۲ ^{de}	۰/۶۰ ^{ef}	۰/۱۷ ^{ab}	۴/۲۵ ^{cde}	۱/۸۵ ^{ab}	۳۱/۵۶ ^{bcd}	۲۱/۰۴ ^{abcd}	تریکودرما ویرنس
۵۱/۳۹ ^d	۰/۷۳ ^{bcdef}	۰/۱۵ ^{ab}	۵/۶۸ ^{abcde}	۱/۸۸ ^{ab}	۲۵/۷۵ ^d	۲۱/۶۷ ^{abc}	تریکودرما هارزیانوم + باسیلوس سابیتیلیس
۵۴/۸۶ ^d	۰/۶۶ ^{def}	۰/۱۳ ^b	۴/۷۴ ^{bcde}	۱/۷۲ ^{ab}	۳۲/۰۶ ^{bcd}	۱۹/۰۰ ^{bcd}	تریکودرما ویرنس + باسیلوس سابیتیلیس
۲۱/۵۳ ^{bc}	۰/۸۲ ^{bcde}	۰/۲۰ ^{ab}	۶/۲۶ ^{abc}	۲/۱۱ ^a	۳۰/۴۵ ^{cd}	۲۰/۱۷ ^{abcd}	تریکودرما هارزیانوم + سودوموناس فلوروسنس
۱۴/۵۹ ^{ab}	۰/۸۰ ^{bcde}	۰/۱۶ ^b	۶/۱۴ ^{abc}	۱/۷۴ ^{ab}	۲۷/۹۴ ^d	۲۱/۱۷ ^{abcd}	تریکودرما ویرنس + سودوموناس فلوروسنس
۳۱/۲۵ ^c	۰/۷۷ ^{bcde}	۰/۱۸ ^{ab}	۵/۸۴ ^{abcd}	۱/۸۰ ^{ab}	۳۸/۵۰ ^{ab}	۱۷/۰۶ ^{abcd}	باسیلوس سابیتیلیس + سودوموناس فلوروسنس
۵۶/۹۴ ^{de}	۰/۵۵ ^{ef}	۰/۱۴ ^b	۴/۶۲ ^{bcde}	۱/۵۰ ^{ab}	۲۷/۴۴ ^d	۱۹/۰۹ ^{bcd}	تریکودرما هارزیانوم + تریکودرما ویرنس

اضافه باسیلوس سابتیلیس به ترتیب با میانگین ۲۱/۵۳ و ۳۱/۲۵ درصد شدت بیماری در رتبه‌های بعدی قرار دارند. این سه تیمار با تیمار شاهد آلوده از نظر شدت بیماری در سطح ۱ درصد اختلاف معناداری نشان دادند. تیمار ترکیبی سودوموناس فلوروسنس به اضافه تریکودرما ویرنس در سطح ۱ درصد با تیمار شاهد سالم تفاوت معناداری نشان نداد در حالی که دیگر تیمارهای زیستی استفاده شده در این آزمایش تفاوت معناداری با تیمار شاهد سالم ایجاد کردند (شکل ۹).

نتایج تأثیر عوامل زیستی روی شدت بیماری Xap نشان دادند که به طور کلی عوامل بیوکنترل استفاده شده در پژوهش حاضر از شدت نشانه‌های سوختگی معمولی لوبیا می‌کاهند. بهترین تیمار در کاهش شدت بیماری، تیمار ترکیبی سودوموناس فلوروسنس به اضافه تریکودرما ویرنس است؛ گیاه آلوده بر اثر این عوامل زیستی به طور میانگین، ۱۴/۵۹ درصد نشانه‌ها را نشان داد و این تیمار باعث کاهش ۷۹/۴ درصدی شدت نشانه‌ها شد. تیمارهای ترکیبی سودوموناس فلوروسنس به اضافه تریکودرما هارزینانوم و سودوموناس فلوروسنس به



شکل ۹- تأثیر عوامل زیستی بر شدت بیماری سوختگی معمولی لوبیا

بحث و نتیجه گیری

بیماری سوختگی معمولی لوبیا با عامل Xap یکی از بیماری‌های مهم لوبیاست که عملکرد این محصول را تا حد زیادی کاهش می‌دهد. نخستین نشانه‌های این بیماری به شکل لکه‌های ریز و مدور قهوه‌ای تا سیاه‌رنگ هستند و با پیشرفت بیماری، لکه‌های آب‌سوخته‌ای اطراف برگ ظاهر می‌شوند و به مرور هاله‌ای زردرنگ اطراف این لکه‌ها را فرا می‌گیرد. این باکتری در مرحله گل‌دهی بیشترین خسارت را به گیاه لوبیا می‌زند و نشانه‌های بیماری در آزمون بیماری‌زایی تا ۸۰ درصد نیز گزارش شد؛ این نتایج با پژوهش‌های اخوان و همکاران^{۱۴} مطابقت دارد (۱۸).

اگرچه در محیط آزمایشگاه، همه عوامل زیستی قارچی و باکتریایی استفاده‌شده در پژوهش حاضر روی باکتری Xap اثر کنترل‌کننده داشتند، اثر کنترل‌کننده قارچ‌های زیستی *تریکودرما هارزیانوم* و *تریکودرما ویرنس* به نسبت باکتری‌های زیستی بهتر بود. ظهور هاله بازدارنده از رشد در اطراف کلنی باکتری‌ها و پرگنه عوامل بیوکنترل قارچی نشان‌دهنده ترشح برخی مواد در محیط کشت با ویژگی بازدارندگی از رشد باکتری Xap توسط این عوامل زیستی است. باکتری *باسیلوس سابتیلیس* با تولید ترکیبات آنتی‌بیوتیکی، لیپوپتیدی و پلی‌کتیدی مانند لیتترین^{۱۵}، سورفاکتین^{۱۶}، فنگایسین^{۱۷}، باسلین^{۱۸}، دیفیسیدین^{۱۹} و ماکرولاکتین^{۲۰} روی عوامل میکروبی اثر بازدارنده دارد (۱۹). همچنین قارچ *تریکودرما هارزیانوم* با تولید آنتی‌بیوتیک‌های ویریدین^{۲۱}، ویریدیوفانجین^{۲۲}، هپتلیدیک اسید^{۲۳} و ترکیباتی مانند هارزیاتیک اسید^{۲۴} و پتی‌بول‌ها^{۲۵} اثر باکتری‌کشی دارد (۱۶ و ۲۰). ازجمله ویژگی‌های پرگنه قارچ‌های *تریکودرما* سرعت رشد زیاد آنهاست؛ این

عوامل زیستی قارچی در مراحل نخستین رشد، هاله‌ای بازدارنده روی پتری حاوی باکتری Xap ایجاد کردند که مانع رشد باکتری Xap شد و سپس با گذشت زمان و رشد سریع خود، کلنی‌های باکتری Xap را فرا گرفتند و روی این باکتری رشد کردند. گانگوار و سینا^{۲۶} نیز در پژوهش‌های خود با اشاره به سرعت رشد زیاد قارچ *تریکودرما* بیان کردند که قطر پرگنه این قارچ‌های زیستی طی ۷۲ ساعت روی محیط کشت مواد غذایی به بیش از ۶ سانتی‌متر می‌رسد (۲۱). بنابراین، علاوه بر تولید ترکیبات آنتی‌بیوتیکی^{۲۷}، لیپوپتیدی^{۲۸} و پلی‌کتیدی^{۲۹}، رشد سریع قارچ‌های *تریکودرما* یکی از مکانیسم‌های کنترلی آنهاست که با اشغال فضا و محدود کردن منابع غذایی، نقش مهمی در سرکوب عوامل میکروبی دارد.

در پژوهشی مشابه، فعالیت بیوکنترلی سویه‌های *سودوموناس فلئوروسنس* روی باکتری Xap بررسی شد و برخی سویه‌ها با ۶۲/۵۰ درصد بازدارندگی از رشد و ۵/۱۷ میلی‌متر هاله بازدارنده، اثر کنترل‌کنندگی بسیار زیادی روی این باکتری بیمارگر گیاهی نشان دادند (۲۲) که تا حد زیادی با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. همچنین گونه‌های *سودوموناس فلئوروسنس* به‌طور عمده با تولید ترکیبات فنولی و فعالیت پراکسیدازی تا ۳۹ درصد باعث کنترل مؤثر بیماری Xap می‌شوند (۲۳). در پژوهش دیگری مشخص شد که عوامل بیوکنترلی *سودوموناس فلئوروسنس*، *باسیلوس سابتیلیس*، *تریکودرما هارزیانوم* و *تریکودرما ویرنس* روی محیط کشت آگار در آزمایشگاه، ناحیه بازدارنده‌ای علیه باکتری *زانتوموناس سیتی* پتوار سیتی^{۳۰} تشکیل می‌دهند؛ دو باکتری *سودوموناس فلئوروسنس* و *باسیلوس سابتیلیس* به ترتیب هاله بازدارنده‌ای به قطر

۱۴/۷ و ۱۳/۹ میلی‌متر تشکیل دادند ولی قارچ‌های زیستی از طریق ازدحام جمعیت و اشغال محیط کشت مانع رشد باکتری بیماری‌زا شدند (۲۴) که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد.

نتایج تأثیر عوامل زیستی روی گیاهان لوییای آلوده به بیماری سوختگی معمولی نشان دادند که این عوامل بیشترین تأثیر را روی افزایش شاخص‌های اندام‌های هوایی گیاه دارند و با محافظت اندام‌های هوایی باعث بهبود رشد شاخص‌هایی مانند وزن تر و خشک و ارتفاع ریشه می‌شوند؛ علت اصلی این، به شیوه کاربرد عوامل زیستی به شکل برگ کاربرد علیه باکتری Xap مربوط است. اگرچه عوامل زیستی قارچی ویژگی کنترل‌کنندگی بیشتری در شرایط مصنوعی روی محیط کشت نشان دادند، باکتری سودوموناس فلئوروسنس بیشترین تأثیر بازدارنده را در شرایط طبیعی و روی گیاه زنده دارد. بهترین حالت در کنترل بیماری Xap با عوامل زیستی موجود زمانی بود که این عوامل با هم ترکیب شدند، به‌ویژه در ترکیبی که یکی از عوامل زیستی باکتری سودوموناس فلئوروسنس بود. هنگامی که عوامل بیوکنترل باکتریایی و قارچی به‌تنهایی استفاده شدند، اثر کمی روی کاهش شدت بیماری و افزایش شاخص‌های گیاهی داشتند ولی هنگامی که با سودوموناس فلئوروسنس ترکیب شوند، تأثیر مثبت آنها بر کنترل این بیماری بیشتر می‌شود. عوامل زیستی سودوموناس فلئوروسنس و تریکودرما هارزیانوم با تحریک تولید ترکیبات فنولی در گیاه باعث ایجاد مقاومت گیاه در برابر بیماری‌زاها می‌شوند، همان‌طور که در پژوهشی که روی میزان تولید مواد فنولی در گیاه برنج آلوده به سوختگی زانتوموناسی بر اثر عوامل زیستی مشخص شد، ترکیبات فنولی گیاه آلوده در حضور این

دو عامل زیستی بیش از ۴۰ درصد افزایش یافتند و تأثیر سودوموناس فلئوروسنس روی افزایش غلظت ترکیبات فنولی بیشتر از تریکودرما هارزیانوم بود (۲۵).

سودوموناس‌ها، گونه‌هایی از باکتری‌های محرک رشد گیاه هستند که با تولید سیدروفور، اندول‌استیک‌اسید، ACC-دآمیناز و به‌ویژه انحلال فسفات‌های نامحلول باعث تقویت رشد گیاه و بازدارندگی از رشد عوامل بیماری‌زا می‌شوند (۲۶). همچنین، مشخص شده است که سویه‌های سودوموناس و باکتری‌های محرک رشد در گیاهان به جذب عناصر کم‌مصرف، مقاومت در برابر تنش‌ها و افزایش سرعت رشد گیاهان کمک می‌کنند (۲۷). باکتری‌های سودوموناس بر میزان کلروفیل نیز تأثیر معناداری دارند و این افزایش کلروفیل به افزایش فعالیت آنزیم‌هایی مانند کاتالاز و پراکسیداز نسبت داده شده است (۲۸). در پژوهش دیگری اثبات شد که گونه‌های زیستی باکتری‌های جنس سودوموناس با افزایش میزان کلروفیل در گیاه باعث افزایش فتوسنتز و در نهایت میزان تثبیت و کربوهیدرات در گیاه برنج می‌شوند که به تجمع مواد خشک تولیدی در گیاه منجر می‌شود (۲۹).

در پژوهش حاضر مشخص شد هنگامی که عوامل زیستی با باکتری باسیلوس سابتیلیس ترکیب شوند، ویژگی کنترل‌کنندگی آنها به‌نسبت کاربرد با سودوموناس فلئوروسنس و حتی کاربرد جداگانه عوامل زیستی کاهش می‌یابد؛ باکتری باسیلوس سابتیلیس در ترکیب با قارچ‌های تریکودرما باعث کاهش رشد و جلوگیری از رشد این عوامل زیستی قارچی و در نهایت کاهش تأثیر مثبت آنها روی گیاه می‌شود. این عوامل زیستی در نبود باکتری Xap نیز تأثیر مثبتی روی ویژگی‌های رشدی گیاه دارند و تا حدی باعث افزایش

۳۹/۰۳ درصد شدت نشانه‌ها به ترتیب ۵۸/۹۶ و ۵۶/۸۹ درصد کاهش می‌دهند (۳۵). گیاه برنج آلوده به باکتری زانتوموناس هنگامی که با باکتری زیستی سودوموناس فلئوروسنس تیمار شود، بیش از ۵۸ درصد کاهش نشانه‌ها را نسبت به تیمار آلوده نشان می‌دهد (۳۶). باکتری سودوموناس فلئوروسنس به طور میانگین ۶۳/۸ درصد و گونه‌های مختلف باسیلوس به طور متوسط بین ۴۹ تا ۶۳ درصد نشانه‌های ایجاد شده زانتوموناسی روی سطح برگ فلفل را کاهش می‌دهند (۳۷). همچنین لکه‌های باکتریایی که باکتری زانتوموناس روی خیار ایجاد می‌کند به طور معناداری با عوامل زیستی سودوموناس از جمله سودوموناس فلئوروسنس و سویه‌های باسیلوس سابتیلیس کاهش می‌یابد (۳۸).

References

- (1) Da-Silva JG. *FAO Year Book-World Food and Agriculture*. 1rd ed. United Nations: FAO Publication. Rome; 2014.
- (2) Matthee FN., Daines RH. The influence of nutrition on susceptibility of peach foliage to water congestion and infection by *Xanthomonas pruni*. *Phytopathology* 1969; 59: 285-287.
- (3) Ahmadi K., Gholizadeh HA., Ebadzadeh HR., Hosainpour R., Hatami F., Fazli B., et al. *Iranian agricultural statistics in 2012-13*. 1rd ed. Tehran: Published by the Ministry of Agriculture, Planning and Economic and Center of ICT; 2015.
- (4) Majnoun-Hoseaini N. *Agriculture and cereal production*. 4rd ed. Tehran: Press Organization (SID); 2015.
- (5) Schaad NW., Jones JB., Chun W. *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*. 3rd ed. USA Schaad: APS Press Hall; 1994.

شاخص‌های گیاهی می‌شوند. بنابراین، یکی از مکانیسم‌های کنترلی این عوامل زیستی تقویت گیاه است که به ایجاد مقاومت گیاه در برابر شرایط نامساعد محیطی و غیر محیطی منجر می‌شود.

در پژوهش‌های مختلف مشخص شده که اثر بیوکنترلی قارچ تریکودرما به علت سازوکارهایی نظیر رقابت، تحریک رشد گیاه، آنتی‌بیوز، فعال کردن واکنش‌های دفاعی گیاه، تنظیم و القای عوامل رشدی گیاه مانند اکسین^{۳۱}، سیتوکینین^{۳۲} و اتیلن^{۳۳} است (۱۶). همچنین، اثر بیوکنترلی باکتری باسیلوس شاید به علت استفاده از سازوکارهایی نظیر تولید آنتی‌بیوتیک، افزایش رشد گیاه و مقاومت القایی است (۱۶). باکتری باسیلوس سابتیلیس با تولید موادی از جمله جیرلین^{۳۴} و اندول استیک اسید، رشد گیاه را افزایش می‌دهد (۳۰). تولید ۶-پنتیل-آلفا-پیرون^{۳۵} یکی از مهم‌ترین متابولیت‌های تریکودرما هارزیانوم و محرک رشد گیاهی در غلظت‌های کم شناخته شده است (۳۱). در پژوهش دیگری ثابت شده است که گونه تریکودرما ویرنس باعث افزایش سرعت فتوسنتز در گیاه ذرت می‌شود و از این راه باعث افزایش شاخص‌های رشدی در این گیاه می‌شود (۳۲). همچنین جدایه‌های تریکودرما باعث القای افزایش کارایی استفاده از نیتروژن در گیاهان می‌شوند (۳۳ و ۳۴).

در پژوهشی مشابه، شدت بیماری شانکر مرکبات که بر اثر باکتری زانتوموناس ایجاد می‌شود بر اثر عوامل زیستی باسیلوس سابتیلیس، سودوموناس فلئوروسنس، تریکودرما ویرنس و تریکودرما هارزیانوم به ترتیب ۶۱/۹، ۵۰/۱، ۴۸/۴ و ۴۱/۹ درصد کاهش یافت (۲۴). همچنین تریکودرما هارزیانوم و تریکودرما ویرنس نشانه‌های بیماری زانتوموناسی گیاه برنج را با ۳۷/۷۶ و

- (6) Mohammadi F. Phenotypic and genotypic characterization of causal agent of common bacterial blight of bean (*Phaseolus vulgaris*) in Zanjan province. Zanjan: Zanjan Univ; 2010.
- (7) Zamani Z., Bahar M., Jacques MA., Lak MR., Akhavan A. Genetic diversity of the common bacterial blight pathogen of bean, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, in Iran revealed by rep-PCR and PCR-RFLP analyses. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2010; 27: 2371-2378.
- (8) Lak MR., Dorri HR. Screening bean genotypes (*Phaseolus vulgaris*) for resistance to common bacterial blight disease in Markazi Province, Iran. *Plant Protection Journal* 2009; 1: 311-320.
- (9) Chaudhari PJ., Shrivastava P., Khadse AC. Substrate evaluation for mass cultivation of *Trichoderma viride*. *Asiatic Journal of Biotechnology Resources* 2011; 4: 441-446.
- (10) Sindhu SS., Rakshiya YS., Sahu G. Rhizosphere bacteria and their role in biological control of plant diseases. *Pest Technology* 2009; 3: 10-21.
- (11) Ershad fath F., Banejad H., Mohsenzadeh F. Adaptation of *Trichoderma* Species to Pesticide Confidor and Evaluation of their Growth Ability in the Media Containing Confidor. *BJM*. 2015; 4(15): 145-154.
- (12) Mabagala RB. Epiphytic bacteria various bean genotype and their potential for biocontrol of *xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. *Tanzania Journal of Agriculture science* 1999; 2(1): 19-26.
- (13) Rashid M., Chowdhury MSM., Sultana N. In-vitro screening of some chemicals and biocontrol agents against *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, the causal agent of soft rot of potato *Solanum tuberosum*. *The Agriculturists* 2013; 11(2): 1-9.
- (14) Schoonhoven AV., Pastor-Corrales MA. Standard System for the Evaluation of Bean Germplasm. Centro Internacional de Agricultura Tropical: Cali, Colombia; 1987.
- (15) Dhanya MK., Mary CA. Management of bacterial blight of anthurium (*Anthurium andreanum* Linden.) using ecofriendly materials. *Journal of Tropical Agriculture* 2006; 44(1-2): 74-75.
- (16) Mirzaei H., Narimani S., Amini M., Taghavi SM., Tarighi S., Javaheri M. Investigation the performance and biological control of the various tomato cultivars against the bacterial wilt disease *Ralstonia solanacearum*. *Biocontrol in Plant Protection* 2015; 2(2): 47-57.
- (17) Pandey DK., Tripathi NN., Tripathi RD., Dixit SN. Fungitoxic and phytotoxic properties of the essential oil of *H. suaveolens*. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 1982; 89: 344-349.
- (18) Akhavan P., Jafari M., Fathian M. Critical success factors of knowledge management systems: A multi-case analysis. *European Business Review* 2006; 18(2): 97-113.
- (19) Raaijmakers JM., Mazzola M. Diversity and natural functions of antibiotics produced by beneficial and plant pathogenic bacteria. *Annual review of phytopathology* 2012; 50: 403-424.
- (20) Reino JL., Guerrero RF., Hernandez-Galan R., Collado IG. Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochemical Review* 2008; 7(1): 89-123.
- (21) Gangwar GP., Sinha AP. Comparative antagonistic potential of *Trichoderma* spp. against *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. *Annals of Plant Protection Sciences* 2010; 18(2): 458-463.
- (22) Kalyan K. Mondal KK. Integrated management strategies for fusarium blight and floury leaf spot of rajmash. *Indian Phytopath* 2004; 57(2): 135-139.
- (23) Dasilva EG., Moura AB., Deuner CC., Farias DR. Estudo de mecanismos de biocontrole do cretamento bacteriano do feijoeiro por bactérias. *Revista Ceres* 2008; 55: 377-383.

- (24) Pabitra Kalita LC., Bora LC., Bhagabati KN. Phylloplane microflora of citrus and their role management of citrus canker. *Indian Phytopath* 1996; 49(3): 234-237.
- (25) Gokil PG. Effect of fungal and bacterial bioagent application on total phenolic content in rice leaves pre-inoculated with *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Uyeda and Ishiyama) Dowson. *Jurnal of Applied and Natural Science* 2014; 6(1): 254-257.
- (26) Yang MM., Mavrodi DV., Mavrodi OV., Bonsall RF., Parejko JA., Paulitz TC., et al. Biological control of take-all by fluorescent *Pseudomonas* spp. from Chinese Wheat Fields. *Phytopathology* 2011; 101(14): 81-91.
- (27) Spaepen S., Vanderleyden J., Remans R. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiology Review* 2007; 31: 425-448.
- (28) Kavino M., Harish S., Kumar N., Saravanakumar D., Samiyappan R. Effect of chitinolytic PGPR on growth, yield and physiological attributes of banana (*Musa* spp.) under field conditions. *Applied Soil Ecology* 2010; 45: 71-77.
- (29) Heidari M., Golpayegani A. Effects of water stress and inoculation with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on antioxidant status and photosynthetic pigments in basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 2011; 23: 1-5.
- (30) Reva ON., Dixelius C., Meijer J., Priest FJ. Taxonomic characterization and plant colonizing abilities of some bacteria related to *Bacillus amyloliquefaciens* and *Bacillus subtilis*. *FEMS Microbiology Ecological* 2004; 48: 249-259.
- (31) Culter HG., Cox RH., Crumley FG., Cole PD. 6-pentyl- α -pyrone from *Trichoderma harzianum*: its plant growth inhibitory and antimicrobial properties. *Agricultural and Biological Chemistry* 1986; 50: 2943-2945.
- (32) Vargas WA., Mandawe JC., Kenerley CM. Plant-derived sucrose is a key element in the symbiotic association between *Trichoderma virens* and maize plants. *Plant Physiology* 2009; 151: 792-808.
- (33) Harman GE. *Trichoderma*-not just for biocontrol anymore. *Phytoparasitica* 2011; 39: 103-108.
- (34) Colombia. Shores M., Mastouri F., Harman GE. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents. *Annual Review of Phytopathology* 2010; 48: 21-43.
- (35) Gokil PG. Efficacy of different isolates of fluorescent *pseudomonads* against bacterial leaf blight of rice. *African Journal of Agricultural Research* 2013b; 8(37): 4588-4591.
- (36) Gokil PG. Field efficacy of formulation of fungal bioagents against bacterial leaf blight of rice caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Uyeda and Ishiyama) Dowson. *Journal of Applied and Natural Science* 2013a; 5(2): 423-426.
- (37) Campbell JW., Kloepper JB., Jones TV., Suslow M., Wilson M. Integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under field conditions using foliar biological control agents and plant growth-promoting rhizobacteria. *Biological Control* 2006; 36: 358-367.
- (38) Wei G., Kloepper JW., Tuzun S. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology* 1996; 86: 221-222.

¹ - *Bacillus subtilis*² - *Pseudomonas fluorescence*³ - *Trichoderma harzianum*⁴ - *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*⁵ - *Trichoderma virens*⁶ - *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* (Xap)⁷ - Sodium hypochlorite (NaClO)⁸ - Nutrient agar⁹ - Colony forming units per milliliter (cfu/ml)¹⁰ - Serial dilution¹¹ - Duncan Test

- ¹² - International Center for Tropical Agriculture (ICTA)
- ¹³ - Nutrient Agar
- ¹⁴ - Akhavan *et al*
- ¹⁵ - Leiterin
- ¹⁶ - Surfactin
- ¹⁷ - Fengycin
- ¹⁸ - Bacillin
- ¹⁹ - Difficidin
- ²⁰ - Macrolactin
- ²¹ - Viridin
- ²² - Viridifungin
- ²³ - Heptanoic acid
- ²⁴ - harzianic acid
- ²⁵ - petibols
- ²⁶ - Gangwar and Sinha
- ²⁷ - Antibiotics
- ²⁸ - Lipopeptide
- ²⁹ - Polyketide
- ³⁰ - *Xanthomonas compestris* pv. *citri*
- ³¹ - Oxine
- ³² - Cytokinin
- ³³ - Ethylene
- ³⁴ - Gibberellins
- ³⁵ - 6-pentyl- α -pyrone