آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۸۶، شماره ۱، شهریور ۱۳۹۷

تاثیر برخی بسترهای غذایی جامد در اسپورزایی جدایه *Streptomyces carpaticus* UTS49 و کنترل نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* در گوجه‌فرنگی

نیلوفر محمدی فشارکی، کیوان بهبودی✉ و رامین حیدری
به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشیار و دانشیار؛ گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
(تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۶؛ تاریخ پذیرش: فروردین ۱۳۹۷)

چکیده

نماتدهای ریشه‌گرهی به عنوان انگل اجباری گیاهان دارای پراکنش وسیع در جهان هستند. اعضای این جنس به بیش از ۳۵۰۰ گونه‌ی مختلف از گیاهان آوندی حمله می‌کنند. گونه‌های *Streptomyces* از جمله باکتری‌های گرم مثبتی هستند که خاصیت نماتدکشی آن‌ها در چندین مورد به اثبات رسیده است. در این تحقیق تأثیر بسترهای غذایی جامد (دانه ارزن و دانهٔ گندم) بر توان اسپوردهی *Streptomyces carpaticus* UTS49، میزان کلونیزاسیون ریزوسفر گیاهچه گوجه‌فرنگی و توانایی کنترل نماتد ریشه‌گرهی *Meloidogyne javanica* بررسی شد. نتایج نشان داد جدایه *S. carpaticus* UTS49 قادر به کنترل نماتد ریشه گرهی در شرایط آزمایشگاه بود و بررسی برای امکان انبوه‌سازی آن با مواد ارزان قیمت انجام شد. در این بررسی بهترین بستر غذایی *Streptomyces*، دانه گندم تعیین شد که این بستر علاوه بر افزایش قدرت کنترلی آنتاگونیست علیه نماتد (۷۱٪ مرگ‌ومیر لارو سن دوم و ۲۲/۳۳٪ کاهش تفریخ تخم)، باعث افزایش رشد گیاه و قدرت کلونیزاسیون ریشه گوجه‌فرنگی توسط باکتری نیز شد. همچنین دانه گندم-استرپتومایسس بر رشد هوایی و ریشه‌دهی گیاه گوجه‌فرنگی اثر مثبت داشت.

واژه‌های کلیدی: اسپوردهی، انبوه سازی،آنتاگونیست، دانه گندم، کلونیزاسیون.

Effect of some solid nutrient state substrates on sporulation of *Streptomyces carpaticus* UTS49 and control of *Meloidogyne javanica* in tomatoes

N. MOHAMMADI FESHARAKI, K. BEHBOUDI✉ and R. HEYDARI
M.Sc. Student of Plant Pathology, Associate professor & Associate professor, Respectively;
Department of Plant Pathology, College of Agriculture, University of Tehran, Karaj, Iran

Abstract

Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are obligate plant parasites distributed worldwide. The genus almost parasitize about 3500 species of different vascular plants. The gram-positive bacteria of the genus *Streptomyces* have nematicide trait. The effects of millet and grain substrates on the sporulation of *Streptomyces carpaticus* UTS49, antagonistic ability on *Meloidogyne javanica*, the growth of tomato seeding and colonization of the rhizosphere were studied. As a result, the antagonists were able to control of root- knot nematode in vitro. Mass production of antagonists conducted with the cheap materials. The result indicated that the best substrate for *S. carpaticus* was wheat grain. This substrate showed high biocontrol ability against nematode with 71% mortality of the second stage juveniles (J2), reduction of 22/33% of eggs hatching, strong ability of colonization and growth-promotion on tomato. Wheat grain-*Streptomyces* had a positive effect on shoots and root growth of tomato.

Key words: Antagonists, colonization, mass production, sporulation, wheat grain.

✉ **Corresponding author: behbodi@ut.ac.ir**

مقدمه

نماتدهای ریشه‌گرهی *Meloidogyne* spp. از مهم‌ترین عوامل خسارت‌زا به گوجه‌فرنگی می‌باشد. این عامل بیماری‌زا، سالانه به تنهایی موجب خسارت بیش از ۱۰۰ میلیارد دلار به بخش کشاورزی می‌شود (Huang *et al.*, 2004). کنترل نماتد ریشه‌گرهی به دلیل دامنه وسیع میزبانی، دوره کوتاه چرخه زندگی، تولیدمثل زیاد و نیز انگل داخلی بودن آن دشوار می‌باشد (Lopez-IlorcaL *et al.*, 2008). علیرغم تنوع روش‌های کنترل این نماتدها، به دلیل محدودیت‌هایی که هر یک از روش‌های مذکور دارند، هیچ یک روش قاطع و مؤثری برای مبارزه محسوب نمی‌شوند. یکی از روش‌هایی که در سال‌های اخیر همانند سایر عوامل بیماری‌زا برای کنترل مورد توجه قرار گرفته است استفاده از عوامل مهار زیستی می‌باشد. میکروارگانیسم‌های متنوعی در خاک به نماتد ریشه‌گرهی حمله می‌کنند و موجب کاهش جمعیت آنها می‌شوند که قارچ‌ها، باکتری‌ها و نماتدها مهم‌ترین آنها محسوب می‌شوند.

کاربرد میکروارگانیسم‌های مفید خاک به‌ویژه باکتری‌ها، یکی از گزینه‌های مطرح در مدیریت صحیح این عوامل هستند. اکتینوباکترها از جمله باکتری‌های گرم مثبتی هستند که خاصیت نماتدکشی آن‌ها در چندین مورد به اثبات رسیده است (Dimkpa *et al.*, 2008). این گروه حدود ۴۰ درصد از جمعیت باکتریایی را در محیط‌های خاکی تشکیل می‌دهند (Takatsu *et al.*, 2003). *Streptomyces* spp. گروهی از اکتینوباکترها هستند که علاوه بر اینکه جمعیت بالایی در خاک را تشکیل می‌دهند، قادر به تحمل شرایط اسیدی نیز می‌باشند. یکی از مکانیسم‌های تاثیر باکتری‌های *Streptomyces* spp. تولید آنتی‌بیوتیک‌ها می‌باشد. از جمله این موارد می‌توان به آنتی‌بیوتیک‌های استرپتومایسین، تتراسایکلین، سیکلوهگزامید و سایر متابولیت‌های ثانویه اشاره کرد (Malkawi *et al.*, 1999). برخی از استرپتومایسس‌ها به دلیل تولید متابولیت‌های کشنده، جهت کنترل نماتدهای انگل گیاهی استفاده می‌شوند (Schaad *et al.*, 2001). در شرایط گلخانه فعالت بالقوه نماتدکشی *S. hydrogenans* بررسی شده است و نتایج آن نشان داد که *S. hydrogenans* strain DH16 و متابولیت‌های آن را می‌توان به عنوان نماتدکشی ایمن استفاده نمود، علاوه بر این، برای افزایش رشد گیاه نیز مورد استفاده قرار داد (Kaur and Manhas, 2014). کیم و همکاران (Kim *et al.*, 2011) استرین *Streptomyces sampsonii* KK1024 را به عنوان یکی از عوامل موفق در کنترل زیستی معرفی کردند. تأثیر جدایه‌ها بر وزن ریشه نیز قابل توجه بوده است. تولید ریشه سبب رشد اندام‌های هوایی و در نتیجه افزایش مقاومت گیاه در برابر حمله عوامل بیماری‌زا از جمله نماتدها شده است.

توانایی میکروارگانیسم‌های مختلف برای تولید انواع ترکیبات آنتاگونیستی و تنظیم کننده‌های رشدی گیاه به افزایش کارایی بیوکنترلی آن‌ها وابسته است. فعالیت آنتاگونیست‌ها به عنوان عامل بیوکنترل، تحت تأثیر فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی محیط زیست قرار می‌گیرد. تحقیقات نشان داده است محیط کشت یکی از فاکتورهای مؤثر بر میزان رشد، تولید ترکیبات آنتاگونیستی، ترکیبات افزایش دهنده‌ی رشد گیاه و کارایی قدرت بیوکنترلی عامل کنترل بیولوژیک است. هزینه‌های بالای اقتصادی یکی از محدودیت‌های اساسی تولید است که برای غلبه بر این محدودیت و افزایش کمیت و کیفیت بیوکنترلی عامل بیولوژیک، می‌توان از محیط‌های کشت مناسب و ارزان قیمت به عنوان یکی از فاکتورهای مؤثر در تولید انبوه استفاده کرد (Verma *et al.*, 2007). به طورکلی، فرمنتاسیون جامد و فرمنتاسیون مایع دو روش عمده‌ی تولید مایه آنتاگونیست‌ها هستند. در فرمنتاسیون جامد، آنتاگونیست روی انواع دانه‌های غلات، حبوبات و ضایعات جامد کشاورزی رشد می‌کند. محصول نهایی این سیستم بیشتر به صورت مستقیم در خاک خزانه یا مزرعه‌ی اصلی برای کاهش و جلوگیری از رشد مایه بیمارگرهای خاکزاد به آن اضافه می گردد (Ramanujam *et al.*, 2010).

هدف از این تحقیق بررسی اثر کنترل کنندگی جدایه *Streptomyces carpaticus* UTS49 روی نماتد ریشه گرهی

Meloidogyne javanica و امکان تولید مقرون به صرفه با حداکثر میزان اسپورزایی و حداکثر کارایی کنترل بیولوژیکی روی نماتد ریشه گرهی است.

روش بررسی

تهیه و تکثیر نماتد: نماتد ریشه گرهی از مزارع کاشان تهیه شد. با استفاده از مشخصات الگوی انتهای بدن ماده (Pereneal pattern) شناسایی شد. گونه مورد آزمایش *M. javanica* تشخیص داده شد (Sasser and Carter, 1985). پس از تهیه نمونه گیاهی آلوده به نماتد، با استفاده از روش توده تخم منفرد و تکثیر متوالی آن روی گیاهچه‌های رقم حساس ارلی اوربانا گوجه فرنگی انجام شد. گیاهچه‌ها به مدت ٤٥ الی ٦٠ روز در دمای ٢٦–٢٨ درجه سلسیوس و رطوبت ٦٠–٦٥ درصد گلخانه نگهداری شدند. برای انجام آزمایش‌ها، استخراج تخم و لارو سن دوم از روش هوسی و بارکر استفاده شد (Hussey and Barker, 1973).

تهیه و تکثیر باکتری: جدایه باکتری *Streptomyces carpaticus* UTS49 از کلکسیون آزمایشگاه کنترل بیولوژیک بیماری‌های گیاهی دانشگاه تهران تهیه شد این جدایه توسط عینی از ریشه‌های خیار مزارع کرج جداسازی شده بود و توانست در گیاه خیار علیه *Sclerotinia sclerotiorum* عملکرد بیوکنترلی مؤثری نشان دهد (Eini, 2013). به منظور کشت باکتری از محیط کشت SCA استفاده گردید و ظرف پتری‌دیش داخل انکوباتور با دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۲۰ ساعت قرار داده شد (Kaura *et al*., 2016).

اثر جدایه باکتری روی مرگ‌ومیر لارو سن دوم و تفریخ تخم نماتد *Meloidogyne javanica*: برای جدا سازی تخم، ریشه آلوده به نماتد به قطعات دو الی سه سانتی‌متری خرد شده و سپس در ۲۰ میلی‌لیتر محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد قرار داده شده و به مدت یک الی دو دقیقه به شدت تکان داده شد. پس از آن روی الک ۵۰۰ مش ریخته شد و با آب مقطر سترون شستشو داده شد (Hussey and Barker, 1973). جدا سازی لارو سن دوم، به روش Barker (1985) انجام شد. لاروها روزانه پس از تفریخ تخم به وسیله الک ۵۰۰ مش جدا سازی شد.

برای انجام آزمایش به چاهک‌های ظروف کشت بافت ۲۴ خانه‌ای، پنج میلی‌لیتر سوسپانسیون حاوی ۱۰۰ عدد لارو نماتد اضافه شده و سپس پنج میلی‌لیتر سوسپانسیون اسپور آنتاگونیست به غلظت $۴/۵\times۱۰^{۶}$ اضافه شد. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. برای نمونه شاهد پنج میلی‌لیتر آب مقطر سترون اضافه شد. آزمایش در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انجام شد. مرگ و میر لارو سن دوم پس از ۷۲ ساعت شمارش شد.

بررسی اثر جدایه باکتری بر میزان تفریخ تخم نماتد با سه تکرار برای هر تیمار پس از ۷۲ ساعت به روش Meyer *et al.* (2004) و در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد.

تهیه محیط جامد و مایه‌زنی باکتری: محیط کشت جامد حاوی ۱۰۰ گرم دانه‌ی گندم و ۵۰ میلی لیتر آب مقطر و محیط کشت جامد حاوی ۱۰۰ گرم بذر ارزن و ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد.

پس از تهیه محیط کشت، ارلن‌های حاوی محیط کشت در دو روز متوالی به فاصله ۲۴ ساعت و به مدت ۳۰ دقیقه در اتوکلاو سترون شدند.

برای تهیه محیط از کشت باکتری سوپانسیون $۴/۵\times۱۰^{۶}$ به میزان ده میلی‌لیتر به هر یک از ارلن های‌حاوی محیط‌های کشت اضافه و سپس ارلن به مدت ده روز در دمای ۲۸ درجه سلسیوس و ۱۲ ساعت روشنایی قرار گرفت (Zhang *et al*., 2014).

تعیین جمعیت اسپور بسترهای جامد: یک گرم از محیط را داخل فالکون سترون ریخته و سپس ده میلی لیتر آب مقطر سترون به هر فالکون اضافه کرده و به مدت سه دقیقه روی ورتکس با دور بالا قرار داده سپس اسپورهای حاوی محیط کشت از پارچه ململ عبور داده شد. اسپور هر محیط به وسیله لام هماسیتومتر با سه بار تکرار شمارش شد (Sargin *et al*.,

(2013).

تعیین زنده‌مانی نگهداری اسپورها: پس از تهیه محیط کشت‌ها در ارلن، محتویات ارلن در داخل کاغذ صافی سترون ریخته و سپس هر کاغذ صافی استریل داخل فویل آلومینیومی سترون قرار داده و به مدت دو ساعت در دمای ۵۰ درجه سلسیوس در آون قرار داده، پس از خشک شدن محیط‌ها به وسیله آسیاب محیط‌های حاوی اسپور پودر شده، سپس هر محیط در دمای چهار درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از یک، سه و شش ماه زنده‌مانی محیط‌ها بررسی شد.

یک گرم پودر به فالکون‌های سترون منتقل شده به هر فالکون نه میلی‌لیتر آب مقطر سترون اضافه شده و به مدت سه دقیقه با دور بالا ورنکس شده و از هر کدام سریال رقت گرفته و در محیط SCA کشت شده و زنده‌مانی هر محیط به وسیله کلنی شمار محاسبه شد (Witkowska *et al*., 2016).

اثر محیط کشت مختلف روی مرگ و میر لارو سن دوم و تفریخ تخم نماتد ریشه‌گرهی: در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتر مانند روش‌های قبل به میزان پنج گرم محیط کشت‌های مختلف تهیه شد. پس از رشد آنتاگونیست‌ها، ده برابر وزن محیط‌ها (۵۰ میلی‌لیتر)، به هر محیط آب مقطر سترون اضافه شد سپس ارلن‌ها با دور ۱۸۰ دور در دقیقه به مدت پنج دقیقه تکان داده و پس از آن محلول حاوی سوسپانسیون اسپور حاوی محیط کشت از پارچه ململ عبور داده شده تا تنها سوسپانسیون اسپور باقی بماند.

به منظور بررسی اثر محیط کشت‌های مختلف بر میزان مرگ‌ومیر لارو سن دوم و تفریخ تخم نماتد، از روش Meyer *et al.* (2004) استفاده شد و درصد مرگ‌ومیر لارو سن دوم و در صد تفریخ تخم نماتد پس از ۷۲ ساعت محاسبه شد. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد.

بررسی میزان توانایی جدایه‌های باکتری در کنترل نماتد ریشه گرهی در گلخانه: برای بررسی میزان تأثیر جدایه‌ی باکتری مورد نظر در کنترل این نماتد از روش Siddiqui *et al.* (2001) استفاده شد.

ابتدا ده گرم بسترهای غذایی همراه با اسپور آنتاگونیست به غلظت $۴/۵\times۱۰^{۶}$ با خاک لومی-شنی سترون مخلوط و به گلدان یک کیلویی اضافه و سپس یک عدد نشاء گوجه‌فرنگی در مرحله‌ی چهار برگی به هر گلدان منتقل شد. پس از گذشت یک هفته از تاریخ مایه‌زنی بوته‌ها، در اطراف طوقه‌ی هر بوته سه سوراخ به عمق پنج سانتی‌متر ایجاد و به هر گلدان ۲۰۰۰ عدد لارو سن دوم اضافه شد. تیمارها در دمای ۲۶-۲۸ درجه سلسیوس و و رطوبت ۶۰-۶۵ درصد نگه داشته شدند.

۴۵ روز بعد از مایه زنی نماتد، تمام گیاهان از ریشه بطور کامل خارج و ریشه‌ها توسط جریان آب با دقت شسته شد، شاخه‌ها از ریشه‌ها جدا شد، وزن‌تر ریشه و ساقه و طول آنها اندازه‌گیری شد. قبل از خشک کردن ریشه‌ها تعداد گال‌های تولید شده بر روی تمام سیستم ریشه‌ای شمارش شد.

به منظور تعیین تعداد لارو در خاک، ۲۰۰ گرم خاک هر گلدان جدا شده و لاروهای سن دوم به روش Barker (1985) جداسازی و شمارش شدند. تعداد تخم ریشه براساس روش Hussey and Barker (1973) شمارش شد. محاسبه فاکتور تولید مثل بر اساس تقسیم جمعیت نهایی به جمعیت اولیه تعیین شد. همچنین شاخص گال به روش Hussey and Janssen (2002) تعیین شد. هر تیمار دارای پنج تکرار و آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی اجرا شد.

بررسی میزان کلونیزاسیون ریزوسفر گوجه فرنگی توسط جدایه‌ی باکتری: پس از گذشت ٤٥ روز از مایه زنی گیاه توسط آنتاگونیست‌ها، به منظور بررسی میزان کلونیزه شدن ریشه توسط آنتاگونیست‌ها، خاک شش ناحیه اطراف ریشه (دو سانتی‌متری ریشه) گوجه‌فرنگی برداشته با هم مخلوط کرده و سپس یک گرم از خاک مخلوط شده داخل فالکون ریخته و با نه میلی‌لیتر آب مقطر سترون مخلوط و به مدت سه دقیقه بادور بالا روی ورتکس قرار داده شد. سپس از سوسپانسیون حاصله سریال رقت $۱۰^{-۳}$ــ$۱۰^{-۸}$ تهیه شده و روی محیط آب-آگار کشت داده شده و در دمای ۲۸ درجه

سلسیوس به مدت ۲۴-۷۲ ساعت قرار داده و پس از رشد کلنی‌ها میزان CFU هر آنتاگونیست با دستگاه کلونی‌کانتر بررسی شد.

به منظور بررسی میزان جمعیت آنتاگونیست‌ها در خاک، پس از خروج کامل ریشه‌های گوجه‌فرنگی از هر گلدان، خاک گلدان‌ها به خوبی با هم مخلوط شده و از هر گلدان یک گرم (با سه تکرار) خاک برداشته و مانند روش فوق CFU هر آنتاگونیست بررسی شد (Papavizas and Lumsden, 1982).

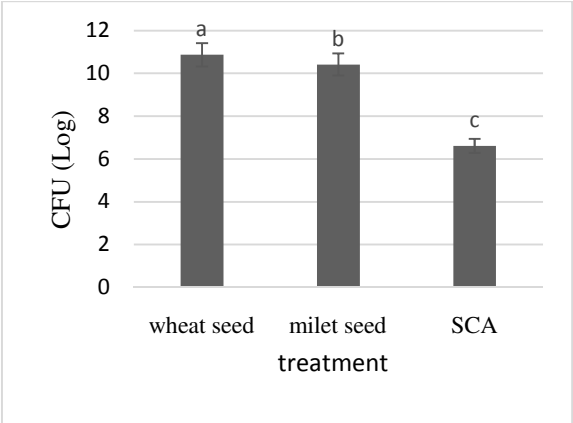
آنالیزهای آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار Spss (16.0) انجام شد. میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن مقایسه شد.

نتیجه و بحث

اثر اسپور *Streptomyces carpaticus* UTS49 در مرگ‌ومیر لارو سن دوم و تفریخ تخم نماتد *Meloidogyne javanica*: بررسی نتایج پس از ۷۲ ساعت نشان داد جدایه *Streptomyces carpaticus* UTS49 قادر به کاهش جمعیت لارو سن دوم نماتد ریشه‌گرهی به میزان ۷۰/۳۳٪ درصد و کاهش تفریخ تخم نماتد به میزان ۲۳٪ درصد شد (جدول ۱).

در پژوهشی که توسط Zahed (2016) انجام شد، کارایی *Streptomyces carpaticus* UTS49 علیه قارچ عامل بیماری *Fusarium oxysporum* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد این باکتری به میزان ۹۱ درصد از جوانه‌زنی اسپور قارچ جلوگیری کرد.

تعیین جمعیت اسپور در بسترهای جامد: نتایج حاصله پس از ده روز نشان داد بسترهای غذایی بر تولید اسپور و افزایش جمعیت باکتری اثر داشته است. دانه گندم و دانه ارزن بدون هیچ نیازی به اضافه کردن مواد غذایی بستری مناسب برای رشد باکتری ست. نتایج نشان داد دانه گندم و دانه ارزن منجر به افزایش اسپور باکتری (به ترتیب $۸/۳\times۱۰^{۱۰}$ و $۲/۷\times۱۰^{۱۰}$ در یک گرم محیط کشت) نسبت تیمار شاهد (SCA) $۵/۵\times۱۰^{۶}$ شدند (شکل ۱).



شکل ۱- اثر بسترهای جامد دانه گندم و ارزن بر میزان تولید اسپور در سطح ۱٪

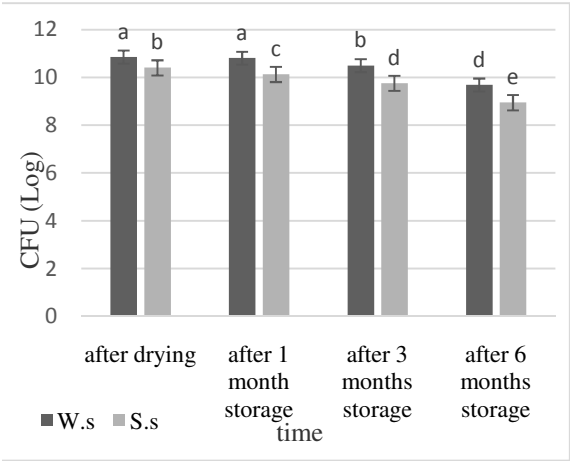
Fig. 1. The effect of millet and grain solid state substrates on the production of spores at 1%

سوآرز و همکاران با هدف تولید اسپوردهی بیش‌تر، برنج سترون را با جدایه *Streptomyces griseus*، *S. purpurascens* N0035 و *S. thermotolerans* مایه زنی کردند. نتایج نشان داد جمعیت اسپور باکتری حدود ۱.۴×۱۰^{۹}-۱.۴۷×۱۰^{۹} در هر گرم برنج است. بنابراین برنج سترون یک بستر غذایی مناسب برای تولید انبوه استرپتومایسس با هزینه پایین بود (Soares *et al.*, 2007).

ماهیت پیچیده دانه و سبوس گندم در ترکیب مواد مغذی منحصر به فرد آن است. دانه گندم حاوی نشاسته بالا یعنی ۷۵/۶ درصد در مقایسه با دیگر بقایای گیاهی و صنعتی از قبیل سبوس برنج ٪ ۵۵/۸، را می‌توان برای تولید آنزیم استفاده کرد (Ellaiah *et al.*, 2002). در این تحقیق نیز به منظور تولید انبوه استرپتومایسس با هزینه پایین، مایه زنی استرپتومایسس روی بسترهای جامد مختلف انجام شد و نتایج نشان داد بهترین بستر برای تولید اسپور استرپتومایسس، دانه گندم و دانه ارزن ($۸/۳\times۱۰^{۱۰}$ و $۲/۷\times۱۰^{۱۰}$ در یک گرم محیط کشت) بوده است (شکل ۱).

تعیین زنده‌مانی و نگهداری اسپورها: زنده‌مانی اسپور *Streptomyces carpaticus* UTS49 پس از یک ماه تغییر قابل توجهی نداشت اما به مرور زمان جمعیت اسپور کاهش یافته

است. در آزمایشی که روی زنده‌مانی *Streptomyces carpaticus* UTS49 انجام شد، بستر دانه گندم-استرپتومایسس توانایی بالاتری در نگهداری اسپور باکتری پس از شش ماه نسبت به دانه ارزن دارا بود (شکل ۲).



شکل ۲- بررسی اثر بسترهای جامد دانه گندم و ارزن بر زنده‌مانی نگهداری اسپور *Streptomyces carpaticus* UTS49 در سطح ۵٪

Fig. 2. The effect of millet and grain solid substrates on viability and spores maintenance of *Streptomyces carpaticus* UTS 49 at 5%.

اثر بسترهای غذایی مختلف روی مرگ‌ومیر لارو سن دوم و تفریخ تخم نماتد ریشه‌گرهی: این بررسی نشان داد مایه زنی جدایه *Streptomyces carpaticus* UTS49 روی بسترهای جامد بر خاصیت نماتد کشی آن اثر مثبت داشته است. دانه گندم و دانه ارزن بستری مناسب برای افزایش خاصیت نماتد کشی این باکتری بودند (جدول ۲).

در پژوهشی پتانسیل نماتدکشی عصاره باکتری *Streptomyces hydrogenans* در برابر نماتد *Meloidogyne incognita* به طور قابل توجهی باعث کاهش تفریخ تخم (تقریبا ۱۰۰ درصد) و مرگ‌ومیر لارو سن دوم بیش از ۹۵٪ بعد از ۹۶ ساعت شد (Kaura *et al*., 2016).

هم‌چنین Ruanpanun *et al*. (2011) نشان دادند که جدایه *Streptomyces* sp. CMU-MH021 سبب کاهش تفریخ تخم به میزان ۳۳/۱ درصد و افزایش مرگ‌ومیر به میزان ۸۲ درصد در مقایسه با شاهد (به ترتیب با میزان ۷۹/٦ و ۳/٦ درصد تفریخ تخم و مرگ‌ومیر لارو) شدند. جدایه *Streptomyces avermitilis* Manp سبب کاهش تفریخ تخم به میزان ۱۵/۳۳ درصد و افزایش مرگ و میر لارو به میزان ۶۸/۵۸ درصد شده است (Jayakumar, 2009).

بررسی میزان توانایی جدایه‌ی باکتری در کنترل نماتد ریشه گرهی در گلخانه: نتایج آزمایش گلخانه‌ای نشان داد کاربرد بسترهای غذایی مختلف باعث کاهش خسارت نماتد ریشه‌گرهی روی گوجه‌فرنگی شده است. بررسی‌ها نشان داده تیمار دانه گندم همراه با اسپور باکتری در مقایسه با تیمارهای دانه ارزن همراه با اسپور باکتری و SCA اثر بهتری بر کاهش تعداد تخم نماتد و شاخص گال و تعداد گال روی ریشه گیاه نسبت به تیمار شاهد داشته است. شاخص‌های رشدی گیاه (طول و وزن گیاه) در تیمار دانه گندم همراه با اسپور باکتری افزایش نشان داد (جدول ۳).

در پژوهشی Kaura *et al*. (2016) فعالت بالقوه نماتدکشی *S. hydrogenans* در شرایط گلخانه را بررسی کردند. نتایج بررسی نشان داد *S. hydrogenans* strainDH16 و متابولیت‌های آن می‌تواند به عنوان نماتدکشی ایمن استفاده شود و علاوه بر این، این جدایه باعث افزایش رشد گیاه نیز شده است.

همچنین در بررسی Kim *et al*. (2011) استرین KK1024 *Streptomyces sampsonii* به عنوان یکی از عوامل موفق در کنترل زیستی معرفی شد. تأثیر جدایه‌ها بر وزن ریشه نیز قابل توجه بوده است تولید ریشه سبب رشد اندام‌های هوایی و در نتیجه افزایش مقاومت گیاه در برابر حمله عوامل بیماریزا از جمله نماتدها می‌شود.

کلونیزاسیون منطقه ریزوسفر توسط جدایه باکتری: نتایج این تحقیق نشان داد که زمانی که استرپتومایسس روی بسترهای جامد کشت داده شد نسبت به حالتی که روی SCA کشت داده شده قدرت کلونیزه کنندگی بالاتری داشته است. بهترین کلونیزه کننده منطقه ریشه توسط تیمار دانه گندم همراه با اسپور باکتری بود (جدول ۴).

جدول ۱- اثر سوسپانسیون اسپور *S. carpaticus* UTS49 بر کنترل نماتد *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاه

Table 1. The effect of spore suspension of *S.carpaticus* UTS49 on *Meloidogyne javanica in vitro*

Treatment	Egg hatch (%)	J2 mortality (%)
***Streptomyces carpaticus* UTS49**	23 b	70.33 a
control	83 a	11.6 b

جدول ۲- اثر بسترهای کشت دانه گندم و ارزن حاوی جدایه *Streptomyces carpaticus* UTS49 بر نماتد *Meloidogyne javanica* در شرایط آزمایشگاه

Table 2. The effect of millet and grain solid substrate containing *Streptomyces carpaticus* UTS49 on *Meloidogyne javanica in vitro*

Treatment	Egg hatch (%)	J2 mortality (%)
Wheat seed	11.3 d	78 b
Milet seed	16.6 b	84 a
SCA	23 b	71.3 b
Control	83 a	11.6 c

جدول ۳- اثر بسترهای کشت دانه گندم و ارزن حاوی جدایه *Streptomyces carpaticus* UTS49 بر نماتد *Meloidogyne javanica* در شرایط گلخانه

Table 3. The effect of millet and grain solid substrate containing *Streptomyces carpaticus* UTS49 on *Meloidogyne javanica* in vivo

Treatment	second stage juvenile/1kg soil)	Reproduction factor	The number of egg	The number of gall	Gall Index	Root fresh weight (g)	Fresh weight of aerial parts (g)	root length (cm)	shoot length (cm)
Wheat seed + *S. carpaticus* UTS49	5114 e	2.9 e	650 e	5.8 e	0.8 e	1.5 a	6.7 a	15 a	28.8 a
Milet seed + *S. carpaticus* UTS49	5900 d	3.3 d	730 d	6.6 d	1 d	1.5 b	6.5 b	14.8 a	28.1 a
SCA + *S. carpaticus* UTS49	7360 c	4.3 c	1240 c	10.4 c	1.4 c	1.2 c	6.2 c	14.2 b	27.5 b
Spore of *S. carpaticus* UTS49	8000 b	4.7 b	1500 b	11.5 b	1.8 b	1.1 d	5.8 d	13.9 b	26.5 b
control	13912 a	8.5 a	3114 a	29.4 a	2.6 a	0.7 e	4.6 e	8.2 c	19.1 c

جدول ٤- اثر بسترهای کشت دانه گندم و ارزن حاوی جدایه *Streptomyces carpaticus* UTS49 بر میزان کلونیزاسیون منطقه ریشه گوجه فرنگی

Table 4. The effect of millet and wheat grain solid substrate containing *Streptomyces carpaticus* UTS49 on colonization of tomato rhizosphare

Trearment	Root colonization	CFU
Wheat seed + *S. carpaticus* UTS49	105 a× 2.5	108 a× 8.9
Milet seed + *S. carpaticus* UTS49	105 b× 1.2	108 ab× 6.5
SCA + *S. carpaticus* UTS49	104 c× 5.5	107c× 1.2
spore of *S. carpaticus* UTS49	105 c× 4.8	107 c× 0.9
Control	d 0	d 0

کلونیزه شدن سطح ریشه‌ی گیاه توسط آنتاگونیست‌ها می‌تواند با ایجاد مقاومت القایی سیستمیک منجر به کاهش حمله‌ی مستقیم عوامل بیماری‌زا شود (Kloepper *et al*., 1992). *Streptomyces* spp. با تثبیت نیتروژن، حلالیت مواد معدنی و تولید سیدروفور یا هورمون‌های گیاهی سبب افزایش رشد گیاه می‌شوند (Dimkpa *et al*., 2008).

References

BARKER, K. R. 1985. Nematode extraction and bioassays, In: Barker KR, Carter CC and JN Sasser (eds), An advance treatise on Meloidogyne, Vol. ii, Methodology. North Carolina State University Graphics, pp. 19–35.

DIMKPA, C., A. SVATOŠ, D. MERTEN, G. BÜCHEL and E. KOTHE, 2008. Hydroxamate siderophores produced by *Streptomyces acidiscabies* E13 bind nickel and promote growth in cowpea (*Vigna munguiculata* L.) under nickel stress. Canadian Journal of Microbiology, 54 (4): 163-172.

EINI, S. 2013. Assesment of rhizosphere *Streptomyces* of cucomber for biocontrol of *Sclerotinia sclerotiorum* [Dissertation].Karaj: Tehran Univ,

ELLAIAH, P., K. ADINARAYANA, Y. BHAVANI, P. PADMAJA and B. SRINIVASULU, 2002. Optimization of process parameters for glucoamylase production under solid state fermentation by a newly isolated *Aspergillus* species. Process Biochemistry, 38 (4): 615–620.

HUANG, X., N. ZHAO and K. ZHANG, 2004. Extracellular enzymes serving as virulence factors in nematophagous fungi involved in infection of the host. Research in Microbiology, 155 (10): 811-816.

HUSSEY, R. S. and K. R. BARKER, 1973. A comparison of method of collecting inoculation for *Meloidogyne* spp. including a new technique. Plant Disease, 57: 1025-1028.

HUSSEY, R. S. and G. J. W. JANSSEN, 2002. Root-Knot Nematodes: *Meloidogyne* species, In: Starr, J. L, Cook,R and Bridge,J (eds), Plant resistance to parasitic nematodes. CAB International, Wallingford, Oxon, UK, pp. 43-70.

JAYAKUMAR, J. 2009. *Streptomyces avermitilis* as a biopesticide for the management of root knot nematode, *Meloidogyne incognita* in tomato. Karnataka Journal of Agricultural Science, 22:564-566.

KAUR, T. and R. K. MANHAS, 2014. Antifungal, insecticidal, and plant growth promoting potential of Streptomyces hydrogenans DH16. Journal of Basic Microbiology, 54 (11): 1175–1185.

KAURA, T., S. JASROTIAB, P. OHRIB, M. KUMARI, 2016. Revaluation of in vitro and in vivo nematicidal potential of amultifunctional streptomycete, *Streptomyces hydrogenans* strain DH16against *Meloidogyne incognita*. Microbiological Research, 192: 247–252.

KIM, S., S. KANG, J. KIM, Y. LEE and S. HONG, 2011. Biological control of root-kont nematode by *Streptomyces sampsonii* KK1024. Korean Journal of Soil Science Fertility, 44 (6): 1150-1157.

KLOEPPER, J., S. TUZUN and J. KUC, 1992. Proposed definitions related to induced disease resistance. Journal of Biocontrol Science and Technology, 2 (4): 349-351.

LOPEZ-ILORCAL, V., J. G. MACIA-VICENTE and H. B. JANSSON, 2008. Mode of action and interaction of nematophagous fungi. In: Ciancio A. and Mukerji K. G. (eds) Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes, pp. 51-76.

MALKAWI, H. I., I. SAADOUN, F. A. MOUMANI and M. M. MEQDAM, 1999. Use of rapid PCR fingerprinting to detect genetic diversity of soil *Streptomyces* isolates. New Microbiology, 22 (1): 53-58.

MEYER, S. L. F., R. N. HUETTEL, X. Z. LIU, R. A. HUMBER, J. JUBA and J. K. NITAO, 2004. Activity of fungal culture filtrates against soybean cyst nematode and root-knot nematode egg hatch and juvenile motility. Nematology, 6: 23–32.

PAPAVIZAS, G. C. and R. D. LUMSDEN, 1982. Improved medium for isolation of *Trichoderma* spp. from soil. Plant Disease, 66: 1019–1020.

RAMANUJAM, B., R. D. PRASAD, S. SRIRAM and R. RANGESWARAN, 2010. Mass production, formulation, quality control and delivery of *Trichoderma* for plant disease management. Journal of Plant Protection Sciences, 2 (2): 1-8.

RUANPANUN, P., N. TANGCHITSOMKID, K. D. HYDE and S. LUMYONG, 2011. Actinomycetes and fungi isolated from plant-parasitic nematode infested soils: screening of the effective biocontrol potential, indole-3- acetic acid and siderophore production. World Journal of Microbiology Biotechnology, 27: 1373-1380.

SASSER, J. N. and C. C. CARTER, 1985. An advance treatise on *Meloidogyne*. North Carolina State University Graphics, pp. 422

SARGIN, S., Y. GEZGIN, R. ELTEM and F. VARDAR, 2013. Micropropagule production from *Trichoderma harzianum* EGE-K38 using solid-state fermentation and a comparative study for drying methods. Turkish Journal of Biology, 37: 139-146.

SCHAAD, N. W., J. B. JONES and W. CHUN, 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3nd Ed. APS Press.

SIDDIQUI, I. A., M. AMER ZAREEN, M. JAVAD ZAKI, and S. S. SHAUKAT, 2001. Use of *Trichoderma* species in the control of *Meloidogyne javanica*, Roor-rot nematode in the Okra and Mungbean. Pakistan journal of Biological sciences, 4(7): 846-848.

SOARES, A. C. F., C. S. SOUSA, M. S. GARRIDO and J. O. PEREZ, 2007. Production of *Streptomyces* inoculum in strelized rice. Scientica Agricola, 64: 641-644.

TAKATSU, T., N. HORIUCHI, M. ISHIKAWA, K. WANIBUCHI, T. MORIGUCHI and S. TAKAHASHI, 2003. A novel nematocide from *Streptomyces lavendulae* SANK 64297. Journal of Antibiotics, 56: 306-309.

VERMA, M., K. B. SATINDER, R. D. TYAGI, R. Y. SURAMPALLI and J. R. VALERÓ, 2007. Starch industry wastewater as substrate for antagonist, *Trichoderma viride* production. Bioresource Technology, 98: 2154-2162.

WITKOWSKA, D., A. KANCELISTA, A. WILCZAK, R. STEMPNIEWICZ, M. PASŁAWSKA, M. PIEGZA W. ŁABA and M. SZCZECH, 2016. Survivability and storage stability of *Trichoderma atroviride* TRS40 preserved by fluidised bed drying on various agriculture by-products. Biocontrol Science and Technology, 12(26): 1591–1604.

ZAHED, M. J. 2016. Assesment of rhizosphere *Streptomyces* of tomato for biocontrol of *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici* [Dissertation]. Karaj: Tehran Univ.

ZHANG, S. W., Y. T. GAN and B. L. XU, 2014. Efficacy of *Trichoderma longibrachiatum* in the control of *Heterodera avenae*. Biocontrol, 59: 319–331.