بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه زابل
دانشکده کشاورزی
گروه گیاهپزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته بیماری شناسی گیاهی

عنوان

بررسی اثر چند فرمولاسیون باکتری *Pseudomonas fluorescens* در کنترل *Rhizoctonia solani* عامل بیماری مرگ گیاهچه لوبیا

استادان راهنما
دکتر ناصر پنجه که
دکتر مسعود احمدزاده

استادان مشاور
دکتر محمد سالاری
روح الله صابری ریسه

نگارش
احسان محمدخانی

۱۳۸۸ /۲/ ۱۵

مهرماه ۱۳۸۷

۱۱۱۶۱۱

بسمه تعالی

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

تاریخ:.....

شماره:.....

پیوست:.....

دانشگاه زابل

دانشکده کشاورزی – گروه گیاهپزشکی

این پایان نامه با عنوان: ((**بررسی اثر چند فرمولاسیون باکتری *Pseudomonas fluorescens* در کنترل *Rhizoctonia solani* عامل بیماری مرگ گیاهچه لوبیا**)) قسمتی از برنامه آموزشی دوره کارشناسی ارشد رشته مهندسی کشاورزی گرایش بیماری شناسی گیاهی توسط دانشجو **احسان محمدخانی** تحت راهنمایی استادان پایان نامه آقایان **دکتر ناصر پنجه که** و **دکتر مسعود احمدزاده** و مشاوره آقایان **دکتر محمد سالاری** و **روح الله صابری ریسه** تهیه شده است. استفاده از مطالب آن به منظور اهداف آموزشی با ذکر مرجع و اطلاع کتبی به حوزه تحصیلات تکمیلی دانشگاه زابل مجاز می باشد.

امضا دانشجو

این پایان نامه ٦ واحد درسی شناخته می شود و در تاریخ **۱۳۸۷/۷/۲۸** توسط هیئت داوران بررسی و نمره **۱۹/٦** و درجه **عالی** به آن تعلق گرفت.

نام و نام خانوادگی	امضا	تاریخ
۱– استاد راهنما: دکتر ناصر پنجه که		
۲– استاد راهنما: دکتر مسعود احمدزاده		
۳– استاد مشاور: دکتر محمد سالاری		
۴– استاد مشاور: روح الله صابری ریسه		
۵– استاد داور: دکتر سید کاظم صباغ		
۶– نماینده محترم تحصیلات تکمیلی: دکتر سلطان رون		

تقدیم به

روح پاک مادرم

پدر عزیزم که دستان محبتش

تکیه گاه نهال زندگی ام است

همسر مهربانم که نیلوفر

وجودم پیچیده در دستان اوست

سپاسگزاری

حمد و سپاس یگانه هستی بخش را که با الطاف بیکرانش این توفیق را ارزانی‌ام داشت تا بتـوانم در راه ارتقـای دانش خویش گامی بردارم. با متین سپاس تو را که جهت عنایت به این هدف مقدس در انجام پروژه و نگاشتن ایـن رساله در خدمت استادان گرانقدرم **آقایان دکتر ناصر پنجه که** و **دکتر مسعود احمدزاده** کسب فیض نمـودم کـه از صمیم قلب کمال سپاس و تشکر را از لطف و محبت بی‌شائبه‌شـان دارم و صـمیمانه از **آقایـان دکتـر محمـد سالاری و مهندس روح الله صابری ریسه** که طـی انجـام ایـن پـژوهش دلـسوزانه یـاری‌ام دادنـد و از تجـارب ارزنده‌شان بهره مندم ساختند متشکرم.

در پایان از تمامی عزیزان که صمیمانه در تمامی مراحل ایـن دانـش نامـه یـار و غمخـوارم بودنـد، دوسـتان عزیـزم، آقایان : مهندس فرزانه ، شاهرخی، گلزاری، شریفی، میرجعفری و خانم ها : مهندس حاج ملک، امیـدواری، آشـفته و کلیه مهربانانی که یاد و خاطرشان در ذهنم جاودانه است ، کمال تشکرو قدردانی را دارم.

بررسی اثر چند فرمولاسیون باکتری *Pseudomonas fluorescens* در کنترل *Rhizoctonia solani* عامل بیماری مرگ گیاهچه لوبیا

چکیده

استفاده از باکتری های آنتاگونیست در شرایط مزرعه در کنترل بیماری ها ممکن است تأثیری متوسط داشته و یا بدون اثر باشد. برای رفع این مشکل سوسپانسیون باکتری های آنتاگونیست باید در حامل های معینی تثبیت شده و به صورت فرمولاسیون هایی برای کاربرد آسان، سهولت حمل و نقل، نگهداری طولانی مدت، حفظ قدرت حیات و افزایش کارایی در مزرعه و تجاری سازی مورد استفاده قرار گیرند. در این بررسی جدایه آنتاگونیست ***Pseudomonas fluorescens*** **UTPF5** جداسازی شده از ریزوسفر گیاهچه لوبیا، برای کنترل ***Rhizoctonia solani*** عامل بیماری پوسیدگی طوقه و پژمردگی گیاهچه لوبیا به صورت چند فرمولاسیون پودرتالک استفاده گردید. تأثیر این فرمولاسیون های باکتریایی در کاهش بیماری پوسیدگی طوقه و پژمردگی گیاهچه لوبیا توسط ***Rhizoctonia solani*** در شرایط گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفت. در مطالعات گلخانه ای، روش آغشته سازی بذور لوبیای رقم ناز با فرمولاسیون های پودری جدایه آنتاگونیست، در بیوکنترل بیماری مؤثر بود. جمعیت جدایه آنتاگونیست **UTPF5** بصورت فرمولاسیون های پودر تالک طی نگهداری در دوره ۱۵۰ روزه نشان داد که جمعیت زیاد اولیه این جدایه باکتری در نُه فرمولاسیون انجام شده طی مدت نگهداری در دماهای ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد حفظ نشد. در جمعیت باکتری مذکور کاهش دیده شد و شدت کاهش در دمای ۴ درجه سانتیگراد بیشتر بود. در بررسی اثر فرمولاسیون در مطالعات گلخانه ای، در پایان شش هفته نگهداری، فرمولاسیون انجام شده در محیط کشت **M1** با چسباننده صمغ عربی(**Arabic Gum**) با ۷۵ درصد کنترل، در کاهش پژمردگی گیاهچه لوبیا بیشترین تأثیر را نشان داده و فرمولاسیون های انجام شده در محیط کشت **NBY** و **KB** به ترتیب با چسباننده های صمغ زانتان(**Xanthan Gum**) و کربوکسی متیل سلولز(**Carboxy Methyl Cellulose**) با ۶۲/۵ درصد کنترل پس از فرمولاسیون **M1-AG** بیشترین تأثیر را نشان دادند. نتایج بررسی اثرات متقابل محیط کشت، چسباننده و دما نشان داد که محیط کشت **M1** با چسباننده **AG** در دمای اتاق(۲۵ درجه سانتیگراد) بیشترین تأثیر را نشان داده و بعنوان بهترین فرمولاسیون شناخته شد. فرمولاسیون در محیط کشت **King's B medium (KB)** با چسباننده **XG** در دمای یخچال(۴ درجه سانتیگراد) به عنوان ضعیف ترین فرمولاسیون شناخته شد. نوع محیط کشت، چسباننده و دمایی که فرمولاسیون در آن نگهداری شد بر جمعیت و بقاء باکتری تأثیر قابل توجهی گذاشت.

کلمات کلیدی: ***Rhizoctonia solani*** ، لوبیا، کنترل بیولوژیک، ***Pseudomonas fluorescens*** ، فرمولاسیون

عنوان | شماره صفحه

مقدمه ۱

۲- بررسی منابع ۵

۲-۱- مفاهیم و مکانسیم های کنترل بیولوژیک بیماری های گیاهی ۵

۲-۱-۱- کنترل بیولوژیک بیماری های گیاهی ۷

۲-۱-۲- استفاده از باکتری های سودوموناس فلورسنت در کنترل بیولوژیک ۱۰

۲-۲- بیماری مرگ گیاهچه لوبیا با عامل *Rhizoctonia solani* ۱۲

۲-۲-۱- ویژگیهای قارچ *Rhizoctonia solani* ۱۲

۲-۲-۲- کنترل بیولوژیک *Rhizoctonia solani* ۱٤

۲-۳- ریزوباکتری های تحریک کننده رشد گیاهان (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) ۱٤

۲-٤- حامل ها در رشد فرمولاسیون ۱٦

۲-٥- انواع فرمولاسیون ۱۷

۲-٥-۱- عمل آوری و کاربرد فرمولاسیون ۱۸

۲-٥-۲- فرمولاسیون تالک ۱۹

۲-٥-۳- سایر انواع حاملها ۲۱

۲-٦- سیستم های نقل وانتقال PGPR و کاربرد فرمولاسیون ۲۲

۲-٦-۱- تیمار بذر ۲۲

۲-٦-۲- تیمار خاک ۲٤

۲-٦-۳- سایر روش های کاربرد فرمولاسیون ۲٤

۲-٦-٤- سیستمهای انتقال چندگانه ۲٥

۲-۷- تولید فرمولاسیون از توده زنده باکتری های آنتاگونیست ۲٦

۲-۷-۱- انتقال فرمولاسیون به گیاه هدف ۲۷

۲-۷-۲- افزایش میزان زنده مانی و تأثیر توده زنده پس از انتقال به گیاه هدف ۲۸

۲-۸- تأثیر فرمولاسیون علیه بیماری های گیاهی ۲۹

۲-۸-۱- فرمولاسیون استرین های منفرد ۲۹

۲-۸-۱- فرمولاسیون استرین های مخلوط ۳۰

۲-۹- افزایش کارایی فرمولاسیون ۳۲

۲-۱۰- تجاری سازی ۳۳

عنوان | شماره صفحه

۱-۱۰-۲- محدودیت های تجاری سازی ۳۵

۲-۱۰-۲- محدودیت های تکنولوژی ۳۸

۳- مواد و روش ها ۳۹

۱-۳- عامل بیماریزا (پاتوژن) ۳۹

۱-۱-۳- نگهداری *Rhizoctonia solani* ۳۹

۲-۱-۳- تهیه مایع تلقیح بیمارگر و اثبات بیماریزایی آن روی لوبیا در شرایط گلخانه ۴۰

۲-۳- باکتری آنتاگونیست *Psedomonas fluorescens* ۴۱

۱-۲-۳- جداسازی باکتری از خاک ۴۱

۲-۲-۳- جداسازی باکتری از طوقه و ریشه ۴۲

۳-۲-۳- جداسازی سودوموناس های فلورسنت ۴۲

۴-۲-۳- بررسی قدرت بازداری از رشد قارچهای بیمارگر درون پتری دیش (Plate assay) ۴۳

۵-۲-۳- تهیه جدایه آنتاگونیست ۴۴

۶-۲-۳- نگهداری باکتری ها ۴۴

۷-۲-۳- تهیه مایه تلقیح جدایه آنتاگونیست *Pseudomonas fluorescens* UTPF5 ..... ۴۴

۳-۳- آزمایش های گلخانه ای ۴۵

۱-۳-۳- روش آغشته سازی بذر با باکتریهای آنتاگونیست ۴۵

۲-۳-۳- بررسی خواص بازدارندگی باکتری آنتاگونیست در شرایط گلخانه علیه بیمارگر *Rhizoctonia solani* . ۴۵

۳-۳-۳- تعیین جمعیت باکتری ۴۶

۴-۳- فرمولاسیون ۴۷

۱-۴-۳- تهیه فرمولاسیون ۴۷

۲-۴-۳- ماندگاری فرمولاسیون پودر تالک در طی مرحله انبارداری ۴۸

۳-۴-۳-اثر فرمولاسیون جدایه در کنترل *Rhizoctonia solani* عامل بیماری پوسیدگی طوقه و پژمردگی گیاهچه لوبیا در گلخانه ۴۹

۴-۴-۳- تجزیه و تحلیل آماری ۴۹

۴- نتایج ۵۰

۱-۴- بررسی خواص بازدارندگی جدایه آنتاگونیست *Pseudomonas fluorescens* UTPF5 در شرایط گلخانه علیه بیمارگر *Rhizoctonia solani* ۵۰

عنوان | شماره صفحه

۲-٤- تأثیر محیط کشت در میزان جمعیت فرمولاسیون های باکتریایی ۵۲
۳-٤- بررسی تأثیر چسباننده در میزان جمعیت فرمولاسیون های باکتریایی ۵۳
٤-٤- تأثیر دماهای نگهداری فرمولاسیون در بقاء باکتری ۵۳
۵-٤- اثرمتقابل محیط کشت و چسباننده ۵٤
٦-٤- اثرمتقابل محیط کشت و دما ۵٤
۷-٤- اثرمتقابل چسباننده و دما ۵۵
۸-٤- بررسی ماندگاری باکتری فرموله شده در حامل پودر تالک ۵٦
۹-٤- تأثیر *Pseudomonas fluorescens* UTPF5 فرموله شده در پودر تالک برفاکتورهای رشدی گیاهچه لوبیا در گلخانه علیه *Rhizoctonia solani* ۵۹

۵- بحث ٦۳
٦- منابع ٦۹
فهرست منابع فارسی ٦۹
فهرست منابع انگلیسی ٦۹
پیوست ۷۷

فهرست جداول

۱-۲- بقاء فرمولاسیون ها در مواد حامل مختلف ۱۷
۲-۲- انواع مواد تقویتی بکاررفته در فرمولاسیون ۱۹
۳-۲- فرمولاسیون های PGPR ها در کنترل بیماری های گیاهی ٤۰
۱-٤- میانگین تاثیر نُه فرمولاسیون باکتریایی در جلوگیری از پژمردگی گیاهچه لوبیا ۵۱

عنوان | شماره صفحه

فهرست اشکال

۱-۱- بخش های مختلف ریزوسفر ریشه گیاهان ٦

۱-۳- مقایسه شاهد سالم با ریشه پوسیده و مرگ گیاهچه آلوده شده توسط *Rhizoctonia solani* ٤١

۳-۳- نگهداری فرمولاسیون باکتری درون ظروف پلاستیکی و فرمولاسیون پودر تالک باکتری UTPF5 *Pseudomonas fluorescens* ٤٦

٤-۱- ایجاد هاله بازدارندگی علیه *Rhizoctonia solani* توسط برخی جدایه های آنتاگونیست ٥٠

٤-۲- تاثیر نُه فرمولاسیون باکتریایی در جلوگیری از رشد *Rhizoctonia solani* در شرایط گلخانه ٥١

٤-۳- میانگین تأثیر محیط کشت بر جمعیت زنده باکتری ها در فرمولاسیون ٥٣

٤-٤- میانگین تأثیر چسباننده بر جمعیت زنده باکتری ها در فرمولاسیون ٥٣

٤-٥- مقایسه دمای اتاق و یخچال در بقای فرمولاسیون ٥٢

٤-٦- اثرمتقابل محیط کشت و چسباننده ٥٤

٤-۷- اثرمتقابل محیط کشت و دما ٥٥

٤-۸- اثرمتقابل چسباننده و دما ٥٦

٤-۹- بهترین فرمولاسیون ها در دمای ۲٥ درجه سانتیگراد ٥٧

۱۰-٤- بهترین فرمولاسیون ها در دمای ۲٥ درجه سانتیگراد ٥٧

۱۱-٤- ماندگاری جمعیت زنده باکتری *Pseudomonas fluorescens* UTPF5 در فرمولاسیون پودر تالک ٥٨

۱۲-٤- ماندگاری جمعیت زنده باکتری *Pseudomonas fluorescens* UTPF5 در فرمولاسیون پودر تالک ٥٨

۱۳-٤- مقایسه سه فرمولاسیون برتر با شاهد در کنترل بیماری در گلخانه ٥٩

۱٤-٤- تأثر *Pseudomonas fluorescens* UTPF5 فرموله شده در پودر تالک بر طول اندام هوایی علیه *Rhizoctonia solani* پس از شش هفته در گلخانه *R. solani* ٦٠

۱٥-٤- - تأثر *Pseudomonas fluorescens* UTPF5 فرموله شده در پودر تالک بر طول ریشه علیه *Rhizoctonia solani* پس از شش هفته در گلخانه ٦٠

۱٦-٤- - تأثر *Pseudomonas fluorescens* UTPF5 فرموله شده در پودر تالک بر وزن تر اندام هوایی علیه *Rhizoctonia solani* پس از شش هفته در گلخانه ٦١

۱۷-٤- - تأثر *Pseudomonas fluorescens* UTPF5 فرموله شده در پودر تالک بر وزن تر ریشه علیه *Rhizoctonia solani* پس از شش هفته در گلخانه ٦١

عنوان | شماره صفحه

۱۷-٤- - تأثر Pseudomonas fluorescens UTPF5 فرموله شده در پودر تالک بر وزن خشک اندام هوایی علیه *Rhizoctonia solani* پس از شش هفته در گلخانه..... ٦٢

۱۸-٤- - تأثر Pseudomonas fluorescens UTPF5 فرموله شده در پودر تالک بر وزن خشک ریشه علیه *Rhizoctonia solani* پس از شش هفته در گلخانه..... ٦٢

فصل اول : مقدمه

علیرغم استفاده از تمامی یافته های علم گیاهپزشکی و ابزارهای موجود برای محافظت از گیاهان در حدود یک سوم از محصولات کشاورزی توسط آفات و بیماریها از بین می روند (Nakkeeran *et al.*, 2005). استفاده از مواد شیمیایی برای کنترل آفات و بیماریها کمک زیادی به افزایش و بهبود محصولات غذایی نموده است(Kloepper, 1993). اگرچه استفاده از مواد شیمیایی مصنوعی در طول سه دهه اخیر مشکلات اکولوژیکی را افزایش داده است، در سال های اخیر توجه دانشمندان به سمت جستجوی پتانسیل موجود در میکروب‌های مفید برای حفاظت گیاهان جلب شده است(Keel and Defago, 1997).

عدم موفقیت در صادرات محصولات زراعی و باغی به علت باقیمانده سموم شیمیایی از یک طرف و تأثیر اندک روش های شیمیایی در کنترل عوامل بیماریزای خاکزی ، هزینه های اقتصادی آن و همچنین کاهش تأثیر آنها به علت ظهور نژادهای مقاوم به آفت کشها از طرف دیگر، سبب محدودیت کاربرد آنها بخصوص در کنترل عوامل بیماریزای خاکزی شده است(Gilmour, 2001). علاوه بر این نگرانیهای زیست محیطی و آلودگی چرخه غذایی به باقیمانده سموم سبب کاهش مصرف آفت کشهای قوی و کاهش مصرف سموم شده است(Rose, 1995). به علاوه مشکلاتی چون از بین رفتن میکروارگانیسم های مفید، مسمومیت کارگران سمپاش، مقدور نبودن سمپاشی در هر شرایط آب و هوایی ازجمله مواقعی که باد می وزد، استفاده از روش های شیمیایی را محدود می کند(Gilmour, 2001). همچنین باوجود قرن ها تجربه در استفاده از روشهای زراعی برای حذف عوامل بیماریزای خاکزی ، به علت دلایل اقتصادی (مثلاً در آیش به علت نیاز فراوان به مواد غذایی و عدم امکان خالی گذاشتن زمین) توسط کشاورزان استفاده نمی گردد. دلایل فوق دستیابی به روشهای سالم و ارزانتر را بعنوان یک چالش جدی فرا روی محققان قرار داده است. بدین جهت در سال‌های اخیر دانشمندان توجه خود را به سمت تحقیق درباره توانایی میکروارگانیزم های مفید کنترل کننده آفات و بیماری های گیاهی معطوف کرده‌اند (Keel and Defago, 1997). عوامل کنترل زیستی، رشد گیاه را افزایش داده و مکانیزم‌های مقاومت را در

میزبان فعال می‌کنند و باعث افزایش تولید محصول و عملکرد می‌شوند. میکروارگانیزم‌های مفید از طریق آنتی بیوز (Fravel 1988; Picard *et al.* 2000)، آنزیم‌های تجزیه کننده نظیر کیتیناز و پروتئاز (Keel and Defago, 1997) ، پارازیتیسم (صابری ریسه و همکاران، ۱۳۸۵)، تحریک سیستم دفاعی گیاه (Vidhyasekaran *et al.*, 1997)، تحریک رشد گیاه و همچنین از طریق رقابت برای جا و غذا عمل می‌کنند(Nakkeeran *et al.*, 2005).

از جمله بیمارگرهای مهم خاکزی می توان *Rhizoctonia solani* Kuehn عامل مرگ گیاهچه، پوسیدگی بذر ، پوسیدگی ریشه و طوقه لوبیا را نام برد. گسترده بودن دامنه میزبانی، انتشار وسیع جغرافیائی، بالا بودن قدرت بیماریزایی، دوام و قدرت بقاء ساپروفیتی، این قارچ را از نظر بیماریزایی با اهمیت نموده و از طرفی، پیچیدگی محیط خاک و عدم کارایی روشهای متداول کنترل شیمیایی، مدیریت بیماریهای خاکزاد را دشوار می سازد. از این رو استفاده از ارقام مقاوم در ترکیب با تناوب زراعی و سایر روشها در کنترل تلفیقی توصیه می شود(Agrios, 2005).

افزایش نگرانی عمومی از محیط زیست موجب افزایش نیاز برای توسعه و استفادهٔ ابزاری از عوامل کنترل بیولوژیک در حفاظت از محصولات شد. یک ریزوباکتری تحریک کننده رشد گیاه (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) مؤثر فقط زمانی می تواند برای کنترل بیماری توسعه یابد که نقش آن در محیط عملش فهمیده شود. در طبیعت محصولات کشاورزی در معرض شرایط محیطی گوناگون و خطر بارندگی و طوفان قرار دارند که شرایط محیطی موجود در اطراف محیط آلودگی را تغییر می‌دهند. یک علم کامل در مورد مکانیسم و طریقهٔ عمل مربوط به کنترل بیماری به انتخاب گزینهٔ مطمئن کمک خواهد کرد که جهت تولید محصول تجاری قابل اطمینان برای صنایع مناسب است(Collins *et al.*,2003)

در سال های اخیر امکان کنترل بیولوژیکی عوامل بیماریزای گیاهی با استفاده از میکروارگانیسم های آنتاگونیست بخصوص باکتریهای متعلق به سودموناسهای فلورسنت از قبیل *Pseudomonas fluorescens*

و *Pseudomonas putida* و تعدادی از گونه های جنس باسیلوس مثل *Bacillus cereus* و *Bacillus subtilis* در کنترل بیماریهای قارچی و باکتریایی ریشه گیاهان زراعی مطرح شده است (Burr *et al.*, 1978; Utkhede and Smith, 1993). میکرو ارگانیسم هایی که در ناحیه ریزوسفر گیاهان زندگی می کنند گزینه مناسبی برای استفاده در روشهای کنترل بیولوژیکی هستند زیرا ریزوسفر خط مقدم دفاعی ریشه علیه بیمارگرهای خاکزی می باشد(Oberhansli *et al.*, 1991). ریزوسفرغنی از عوامل میکروبی است وریزوباکتریهای کلونیزه کننده ریشه، نقش برجسته ای در این مکان دارند(Weller, 1988).

از بین ریزوباکتریهای افزایش دهنده رشد گیاه، باکتریهای متعلق به جنس *Pseudomonas* بخصوص سودوموناسهای فلورسنت از اهمیت ویژه ای در کنترل بیولوژیک برخوردار هستند(Weller, 1988)، اگر چه برخی از سودوموناسهای غیر فلورسنت نیز خواص آنتاگونیستی قابل ملاحظه ای دارند (Picard *et al.*, 2000).

سودوموناسهای فلورسنت بخش قابل توجهی از جمعیت بومی را در خاکهایی که به طور طبیعی بازدارنده از برخی بیماریها هستند و نیز خاکهایی که به طور مستمر زیر کشت بعضی از محصولات قرار گرفته اند (Monoculture) و یا با استفاده از تشعشع خورشیدی پاستوریزه شده اند (soil solarization) تشکیل می دهند(Schisler *et al.*, 1997). علاوه بر این در حقیقت تعداد زیادی از سودوموناسهای فلورسنت مقیم ریزوسفر خصوصیات آنتاگونیستی علیه قارچهای بیمارگر ریشه دارند و در نتیجه می توانند در سلامت گیاه تأثیر داشته باشند.(Keel and Defago, 1997; Vinecent *et al.*, 1991)

اگرچه کنترل بیولوژیک توسط ریزوباکترهای افزایش دهنده رشد گیاه PGPR دستاوردی قابل قبول است اما میزان ثبت عوامل کنترل زیستی برای استفاده تجاری بسیار کم است. تکنولوژی هنگامی پویا می شود که یافته های آزمایشگاهی به مزرعه منتقل شود(Nakkeeran *et al.*, 2005). اما استفاده از باکتری های آنتاگونیست ممکن است تحت شرایط مزرعه در کنترل بیماری ها تاثیری متوسط داشته و یا بدون اثر باشد. برای رفع این مشکل سوسپانسیون باکتری های آنتاگونیست باید در حامل های معینی تثبیت

شده و به صورت فرمولاسیون هایی برای کاربرد آسان، سهولت حمل و نقل، نگهداری طولانی مدت، حفظ قدرت حیات و افزایش کارایی در مزرعه و تجاری سازی مورد استفاده قرار گیرند (Nakkeeran *et al.*, 2005). علاوه بر این، از محصولات تجاری موجود نیز می‌توان با اصلاحاتی به درجه بهتری برای کنترل بیماریها دست یافت. تولید فرمولاسیونهایی با عمر انبارداری بیشتر و طیف عمل گسترده‌تر، به همراه تأثیر طولانی مدت در شرایط مزرعه، زمینه را برای سرعت بیشتر در تجاری سازی این تکنولوژی فراهم می‌کند (Nakkeeran *et al.*, 2005).

معرفی استرین‌های PGPR در محیط اطراف بذر، ریشه، اندام‌های هوایی ممکن است بطور میانگین مؤثر باشد و یا برخی اوقات در کل در شرایط مزرعه‌ای برای کنترل بیماریهای گیاهی بی اثر باشد (Duffy *et al.*,1996) عدم تأثیر استرین‌ها در شرایط مزرعه‌ای ممکن است ناشی از تفاوت در شرایط آب و هوایی باشد که از رشد و بقای عوامل کنترل بیولوژیک ممانعت می نمایند. (Guetsky *et al.*,2001).

فصل دوم : بررسی منابع

۲– بررسی منابع

با آغاز دهه ۱۸۵۰ و توسعه روشهای کشت آزمایشگاهی میکروبها، اصول کنترل بیولوژیک پایه‌گذاری شد و واژه آنتاگونیسم در سال ۱۸۷٤ توسط روبرت با نشان دادن فعالیتهای آنتاگونیستی بین *Penicillium glaucum* و بعضی از باکتریهادر محیط کشت مایع در علم میکروبیولوژی و در سال ۱۹۰۸ با مشاهده بازدارندگی عوامل بیماریزای گیاهی به وسیله برخی متابولیتهای میکروبی در علم بیماری شناسی گیاهی مطرح گردید(Baker, 1987). اصطلاح کنترل بیولوژیک در زمینه بیماریهای گیاهی اولین بار توسط وان توبوف (۱۹۱٤) به کار برده شد و اولین کوششها در مورد به کارگیری کنترل بیولوژیکی بیمارگرهای گیاهی از سال ۱۹۲۰ آغاز گردید.

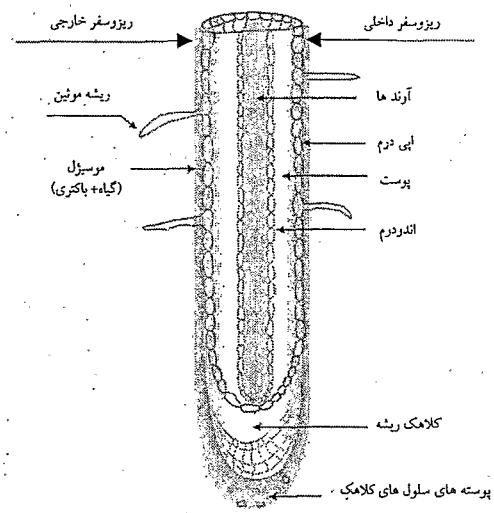
۱–۲– مفاهیم و مکانیسم های کنترل بیولوژیک بیماری های گیاهی

چند لایه سلول خارجی ریشه، که می تواند توسط باکتری ها کلونیزه شود را ریزوسفر داخلی[1] می گویند. سطح ریشه را ریزوپلان[2] و منطقه ای از خاک اطراف ریشه که تحت تاثیر ترشحات آن است را ریزوسفر خارجی[3] می نامند. ریزوسفر خارجی می تواند به اندازه توسعه مسلیوم های میکوریزا توسعه پیدا کند که در این حالت به آن میکوریزوسفر گفته می شود. به منطقه اطراف بذر در حال جوانه زدن که تحت تاثیر ترشحات آن قرار می گیرد اسپرموسفر[4] می گویند (lynch, 1990). مواد غذائی که رشد میکروارگانیسم ها را فراهم می آورند هنگام جوانه زنی بذر و بیشتر در منطقه جنینی به خاک ترشح می شوند. حجم اسپرموسفر کم و ۱۰–۱ میلیمتری از سطح بذر را شامل می شود. باکتری های که بذر را کلونیزه می کنند می توانند بعداً ریشه رشد یافته را نیز کلونیزه کنند (Beattie, 2006).

---

[1] Endorhizosphere
[2] Rhizoplane
[3] Ectorhizosphere
[4] Spermosphere

واژه ریزوسفر را اولین بار هیلتنر[1](۱۹۰٤)، به طور اختصاصی برای بیان تقابل ریزوبیوم ها و ریشه لگوم به کار برد. به طور ساده حجمی از خاک اطراف ریشه که از لحاظ فیزیکی، شیمیائی و بیولوژیکی تحت تاثیر آن قرار می گیرد را ریزوسفر گویند. حجم این خاک بر اساس نوع خاک، گونه گیاهی، سن و فاکتور های دیگر می تواند از چند میلیمتر تا چند سانتیمتر باشد.



شکل ۱- ۱- بخش های مختلف ریزوسفر ریشه گیاهان

ریزوسفر زیستگاه مناسبی برای تکثیر میکرارگانیسم های است که باعث حفظ سلامت گیاه و حاصلخیزی خاک می شوند (Lynch, 1990).

ترشحات ریشه سرشار از اسید های آمینه، مونوساکارید ها، اسید های آلی است و به عنوان یک منبع اصلی غذائی عمل کرده و رشد پویا و فعالیت میکروارگانیسم های مختلفی را حمایت می کند (Beattie, 2006). یکی از گروههای مهم میکروبی ریزوسفر که ریشه را کلونیزه می کنند اثرات مفیدی روی آن دارند. اولین بار توسط کلوپر و اسکروج ریزوباکتری های محرک رشد گیاه (PGPR) Plant Growth Promoting Rhizobacteria نامیده شدند (Podile and Kishore, 2006). در سه دهه اخیر تعداد زیادی از این باکتری ها شناسائی و تعداد کمی از آنها هم به صورت تجاری تولید شده اند که باعث جلب توجه در استفاده از آنها به عنوان روش جایگزینی مناسب برای فراورده های شیمیائی شده است (Fravel, 2005).

جنس هایی همچون *Aeromonas*, *Azospirillium*, *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Klebasiella*, *Pseudomonas* و *Serratia* به عنوان باکتری محرک رشد شناخته شده اند.

[1] Hiltner

تحقیقات برای شناسایی جنس های جدید تر در حال انجام است. از میان PGPR های شناخته شده، *Bacillus* و *Pseudomonas* گسترده ترین آنها هستند که بیشترین مطالعات را به خود اختصاص داده اند (Podile and Kishore, 2006).

ریزوباکتری های زیان آور[1] غالبا باکتری های ساپروفیتی هستندکه درون یا روی بذور یا ریشه گیاهان رشد می کنند و روی ترکیبات آلی آزاد شده از ریشه گیاهان زندگی می کنند. بر خلاف بیمارگر های اصلی، گیاه بوسیله این باکتری ها پارازیته نمی شود و نفوذ به آوند ها هم دیده نمی شود و در کل علائم بیماری ایجاد نمی شود، اما بذر ها و ریشه های موئین توسط این باکتری ها کلونیزه می شود. این باکتری ها با تولید مواد گیاهسوز و تنظیم کننده های رشد گیاهی باعث کاهش رشد گیاه می شوند (Kremer, 2006).

۱-۱-۲- کنترل بیولوژیک بیمارگر های گیاهی

بحث های زیادی در تعریف و حدود کنترل بیولوژیک وجود دارد به خصوص در مورد فناوری های جدید موجود در مدیریت بیمارگر ها. از میان تعاریف قدیمی بیکر و کوک (۱۹۸۳) کنترل بیولوژیک را به عنوان "کاهش در تراکم جمعیت یا فعالیت بیماریزایی بیمارگر در حالت فعال یا غیر فعال، با یک یا چند موجود زنده، انجام شده به صورت طبیعی یا ازطریق دستکاری شرایط محیطی، میزبان یا آنتا گونیست، یا از طریق وارد کرن توده یک یا چند آنتا گونیست به مزرعه معرفی کردند". این تعریف بعدا ساده شده و به صورت "کاهش در میزان اینوکولوم یا فعالیت بیماریزایی بیمارگر انجام شده از طریق یک یا چند موجود به غیر از انسان" بیان شد(Gnanamanickam *et al.*, 2002).

[1] Deleterious Rhizobacteria