بررسی تأثیر باکتری‌های فراریشه بر فعالیت نماتود ریشه گرهی *Meloidogyne incognita* در شرایط آزمایشگاه و گلخانه*

EVALUATION OF RHIZOBACTERIA EFFECTS ON THE ACTIVITY OF ROOT-KNOT NEMATODE, *Meloidogyne incognita* UNDER GREENHOUSE AND LABORATORY CONDITIONS

رضا بهزادی امین، اکبر کارگربیده** و سید محسن تقوی[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱/۱۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۱)

چکیده

در این بررسی اثر تعدادی از باکتری‌های فراریشه بر فعالیت نماتود ریشه‌گرهی *Meloidogyne incognita* در شرایط آزمایشگاه و گلخانه مورد مطالعه قرار گرفت. ابتدا تعداد ۵۲ جدایه از فراریشه گیاهان خیار، بادمجان و گوجه‌فرنگی جداسازی و تأثیر آنها بر تفریخ تخم و مرگ‌ومیر لارو سن دو نماتود ریشه‌گرهی در شرایط آزمایشگاه بررسی گردید. سپس نُه جدایه از مؤثرترین جدایه‌ها، انتخاب و با انجام آزمون‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی شناسایی گردید. استفاده از کشت صاف شده این جدایه‌ها شامل پنج جدایه از *Pseudomonas fluorescens* و جدایه‌هایی از *P. putida*، *Bacillus subtilis*، *B. brevis* و *Serratia* sp. همراه با جدایه *P. fluorescens* CHA0 باعث کاهش تفریخ تخم به میزان ۳۵-۴۸٪ و افزایش مرگ و میر لارو سن دو به میزان ۳۲/۲-۴۸/۸ درصد گردید. سپس اثر این جدایه‌ها بر روی *M. incognita* در گوجه‌فرنگی رقم ارلی‌اوربانا در شرایط گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. استفاده از رقت 10^8 CFU ml^{-1} از سوسپانسیون باکتری‌ها در مخلوط خاک مزرعه و ماسه (نسبت ۳:۱) و خاک مزرعه سترون و غیرسترون، حاوی چهار تخم و لارو سن دو (در گرم خاک) به‌طور معنی‌داری سبب کاهش گال‌زایی و فاکتور تولیدمثل نماتود و افزایش رشد رویشی گیاه در مقایسه با شاهد شد. نتایج نشان داد استفاده از خاک غیرسترون سبب کاهش بیشتر شاخص‌های نماتود در مقایسه با خاک سترون گردید. باکتری‌های *P. putida*، (PF19) *P. fluorescens* و *B. subtilis* مؤثرترین جدایه‌ها در کاهش جمعیت نماتود بودند.

واژه‌های کلیدی: کنترل بیولوژیکی، *Pseudomonas fluorescens*، *Bacillus subtilis*، *B. brevis*، *Serratia* sp.

---

*: بخشی از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد نگارنده اول، ارائه شده به دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

**: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی karegar@shirazu.ac.ir

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و استاد بیماری‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

مقدمه

نماتودهای انگل گیاهی از عوامل مهم ایجاد خسارت اقتصادی به محصولات کشاورزی در مناطق مختلف جهان، به خصوص نواحی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری به شمار می‌آیند. نماتودهای ریشه‌گرهی، *Meloidogyne* spp. با ۹۷ گونه معتبر (Hunt & Handoo 2009) به عنوان مهم‌ترین انگل گیاهان، مخصوصاً سبزی و صیفی محسوب شده و عملکرد محصولات کشاورزی را کاهش می‌دهد (Sasser & Carter 1985). میزان خسارت این نماتودها به عوامل متعددی مانند رقم و گیاه میزبان، شرایط آب و هوایی، نوع خاک و مهم‌تر از همه جمعیت نماتود در خاک بستگی دارد. سطح آستانه اقتصادی خسارت نماتودهای ریشه‌گرهی به محصولات مختلف ۰/۵-۱/۱ تخم در یک میلی‌لیتر خاک تعیین شده است (Sikora & Frenández 2005).

مدیریت بیماری‌های ناشی از نماتودها عموماً با استفاده از پیشگیری، آیش و تناوب زراعی با گیاهان غیرمیزبان، استفاده از ارقام مقاوم، استفاده از نور خورشید، ضدعفونی با بخار آب و روش‌های شیمیایی انجام می‌پذیرد (Pakeerathan *et al.* 2009). در سال‌های اخیر امکان استفاده از میکروارگانیسم‌های فراریشه گیاهان، به همراه روش‌های زراعی جهت کنترل نماتودها به طور وسیعی مورد مطالعه قرار گرفته است. تاکنون باکتری‌های متعددی از جنس‌های مختلف مانند *Pseudomonas*، *Bacillus*، *Burkholderia*، *Streptomyces*، *Arthrobacter* و *Serratia*، به عنوان افزایش‌دهنده رشد گیاه و یا عوامل کنترل بیولوژیک شناسایی و معرفی شده‌اند (Weller 1988). باکتری‌ها از طریق جلوگیری از تفریخ تخم، کاهش فاکتورهای لازم برای تفریخ و تولید متابولیت‌های سمی مؤثر بر سنین لاروی، بر نماتودها تأثیر می‌گذارند. در این میان، باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد توجه زیادی را به خود جلب کرده است (Rodrigeuz-Kabana 1992; Young 1992; Glick 1995). اولین گزارش از تأثیر این میکروارگانیسم‌ها بر نماتودهای انگل گیاهی مربوط به اثرات بازدارنده *P. fluorescens* بر *Radopholus similis* و *Meloidogyne* spp. در شرایط آزمایشگاهی بود (Sikora 1990). در آزمایشی اثر ۳۲ جدایه *P. aeruginosa* و یک جدایه *Bacillus subtilis* بر روی *M. javanica* بررسی شد. استفاده از جدایه *P. aeruginosa* IE-6، موجب مرگ ۵۵٪ لاروها و استفاده از *B. subtilis* باعث مرگ ۴۳٪ آنها گردید (Siddiqui *et al.* 2001). در آزمایشی دیگر اثر متابولیت‌های تولید شده ۶۹ جدایه ریزوباکتری در محیط کشت مایع بر لاروهای سن دو *M. exigua* در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. در این مطالعه جدایه‌های *Bacillus cereus*، *B. megaterium*، *B. pumilus*، *B. thuringiensis* و *Enterobacter cloacae* موجب مرگ‌ومیر بالای لاروهای سن دو نماتود گردید و بهترین نتیجه با کاربرد *B. megaterium* به دست آمد (Oliveira *et al.* 2007).

در ایران در زمینه تأثیر باکتری‌ها بر نماتودهای انگل گیاهی تحقیقاتی صورت گرفته که عمدتاً روی نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica* انجام شده است. *خلیقی و خداکرمیان (۲۰۱۳)*، ضمن شناسایی سودوموناس‌های فلورسنت فراریشه زیتون، تأثیر آنها را در کنترل نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica* بررسی کردند. در یک تحقیق برهمکنش نماتود *M. javanica* و باکتری تثبیت‌کننده ازت *Rhizobium leguminosarum* bv. *Phaseoli* را روی لوبیا چیتی در شرایط گلخانه بررسی گردید و نشان داده شد که حضور باکتری باعث کاهش جمعیت نماتود گردیده است (*جعفرزاده و همکاران ۲۰۰۶*). در بررسی دیگر اثر ۱۱

جدایه از باکتری *Pseudomonas fluorescens* بر مرگ و میر لارو سن دو و تفریخ تخم گونه *M. javanica* در شرایط آزمایشگاهی مطالعه و نشان داده شد جدایه‌های UTPF92 و UTPF95 به‌ترتیب با ۶۶/۴ و ۶۸/۶ درصد کاهش تفریخ تخم و جدایه UTPF95 با ۷۸/۹ درصد مرگ و میر لاروهای سن دو، بیشترین تأثیر بر فعالیت این نماتود را داشتند (گلزاری و همکاران ۲۰۰۸). در تحقیقی دیگر تأثیر *P. fluorescens* استرین CHA0 بر کاهش تعداد گال و کیسه تخم نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica* در شرایط گلخانه نشان داده شد (*سرافراز نیکو و همکاران ۲۰۱۰*). هم‌چنین نشان داده شده است که کاربرد تلفیقی باکتری *Bacillus cereus* با غلظت 10^9cfu/ml و سالسیلیک‌اسید با غلظت پنج میلی‌مولار علیه *M. javanica* روی گیاه خیار موجب کاهش معنی‌دار تعداد گال و تعداد توده تخم نماتود شده است (*سیاهپوش و همکاران ۲۰۱۰*). بررسی اثر باکتری‌های فراریشه بر نماتود ریشه‌گرهی *M. javanica* روی خیار رقم سوپر آملیا در شرایط گلخانه نشان داد که کاربرد توام سه جدایه از باکتری‌های *P. fluorescens* CHA0، *Bacillus subtilis* و *Pantoea* sp. نسبت به استفاده هر یک به‌صورت جداگانه و یا در ترکیب‌های دوتایی، اثر بیشتری در افزایش شاخص‌های رشدی گیاه، و کاهش شاخص‌های مربوط به نماتود داشته است (*مجذوب و همکاران۲۰۱۱*). هم‌چنین در بررسی تأثیر ریزوباکتری‌های جنس *Bacillus* در کنترل زیستی نماتود *M. javanica* در شرایط آزمایشگاه، هشت جدایه از گونه‌های *B. cereus*، *B. licheniformis*، *B. megaterium* و *B. badius*، به عنوان مؤثرترین جدایه‌ها در ممانعت از تفریخ تخم و مرگ‌ومیر لارو سن دو نماتود معرفی گردید (*رمضانی‌مقدم و همکاران ۲۰۱۲*).

هدف از این تحقیق بررسی تأثیر جدایه‌های باکتریایی جداشده از فراریشه گیاهان علیه نماتود ریشه‌گرهی *M. incognita* و هم‌چنین تأثیر آنها بر شاخص‌های رویشی گیاه گوجه فرنگی در شرایط گلخانه بوده است.

روش بررسی

الف) تهیه جمعیت نماتود و جدایه‌های باکتریایی

۱- خالص‌سازی، تکثیر و آماده‌سازی جمعیت نماتود ریشه گرهی *Meloidogyne incognita*

نماتود ریشه‌گرهی *M. incognita* از بخش گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی شیراز تهیه شد. خالص‌سازی و تکثیر نماتود با استفاده از روش توده تخم منفرد بر روی گیاهچه‌های کدو رقم طوس صورت گرفت. گیاهچه‌ها به مدت ۶۰ روز در گلخانه نگهداری شدند. پس از تشکیل گال و کیسه‌تخم و انتقال مجدد آنها به گیاهان جدید در چندین دوره متوالی، جمعیت کافی از نماتود به دست آمد. جهت انجام آزمایش‌های، استخراج تخم با استفاده از روش *هوسی و بارکر* (Hussey & Barker 1973) انجام گرفت.

جهت تهیه لارو سن دو، سوسپانسیون تخم به‌دست آمده روی کاغذ صافی که درون یک الک قرار داشت، ریخته شد. این الک درون یک تشتک پتری حاوی آب مقطر استریل قرار داده و درون انکوباتور با دمای ۲۶±۲°C به مدت دو تا سه روز نگهداری گردید. تخم‌ها روی کاغذ صافی تفریخ شده و لاروهای سن دو پس از عبور از کاغذ صافی در تشتک پتری جمع‌آوری و در مراحل بعدی مورد استفاده قرار گرفت (Barker 1985).

۲- تهیه جدایه‌های باکتریایی و شناسایی آنها

جداسازی باکتری‌های فراریشه گیاهان

نمونه‌برداری از ریشه و مقداری از خاک اطراف گیاهان

آلوده به نماتود و گیاه سالم مجاور گیاه آلوده شامل خیار، بادمجان و گوجه‌فرنگی انجام گرفت. جداسازی باکتری‌ها با روش تهیه سری رقت و کشت ۵۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون رقت‌های $۱۰^{-۳}$ و $۱۰^{-۴}$ روی محیط کشت نوترینت آگار صورت پذیرفت. پس از گذشت ۴۸ ساعت و نگهداری محیط کشت‌ها در دمای $۲۵^{\circ}C$، جداسازی باکتری‌ها با توجه به شکل ظاهری و رنگ پرگنه‌ها انجام شد. خالص‌سازی تک پرگنه‌ها به وسیله مخططکردن هر تک پرگنه روی محیط NA انجام گرفت.

آزمون‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی جهت تشخیص جدایه‌های باکتریایی

شناسایی جدایه‌های باکتریایی، که بهترین نتیجه را در جلوگیری از تفریخ تخم و افزایش مرگ و میر لاروهای سن دو نماتود داشتند، با استفاده از آزمون‌های استاندارد باکتری‌شناسی مانند آزمون‌های گرم، اکسیداز، کاتالاز، لوان، ایجاد رنگدانه فلورسنتبر روی محیط KB، تولید رنگ سبز متالیک روی محیط کشت EMB، تولید رنگ زرد بر روی محیط کشت YDC، واکنش فوق حساسیت بر روی توتون، رشد هوازی و بی‌هوازی، هم‌چنین تولید اسید از قندها انجام گرفت (Schaad *et al.* 2001).

ب- بررسی تأثیر جدایه‌های باکتریایی بر نماتود ریشه گرهی در شرایط آزمایشگاهی

۱- تأثیر جدایه‌های باکتریایی بر تفریخ تخم و مرگ‌ومیر لارو سن دو نماتود

پنج میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری که به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵°C روی محیط King B رشد کرده بودند را در غلظت $۱۰^{۸}$ /ml Colony Forming Unit، به همراه یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاوی ۱۰ ±۱۰۰ عدد تخم و لارو ضدعفونی شده سطحی به وسیله محلول استرپتومایسین ۰/۱٪ در هر تشتک پتری ریخته شده و تعداد تخم‌های تفریخ شده پس از گذشت دو و چهار روز و تعداد لاروهای مرده پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. در تشتک پتری شاهد از آب مقطر سترون استفاده شد. جهت اطمینان از مرگ‌ومیر لاروها در هنگام شمارش، آنها را توسط یک سوزن تحریک کردیم تا لاروهای بی‌حرکت و غیرفعال از لاروهای مرده متمایز گردند (Cayrol *et al.* 1989). در نهایت درصد تلفات لاروها در تیمارها با استفاده از فرمول هندرسون- تیلتون محاسبه شد (Henderson & Tilton 1955)

$$\text{درصد مرگ و میر لارو} = [۱-\frac{Ta \times Cd}{Tb \times Ca}] \times ۱۰۰$$

در این فرمول: Ta = تعداد لارو زنده پس از گذشت زمان در تیمار مورد نظر، Tb = تعداد لارو زنده قبل از گذشت زمان در تیمار مورد نظر، Ca = تعداد لارو زنده پس از گذشت زمان در تیمار شاهد Cb = تعداد لارو زنده قبل از گذشت زمان در تیمار شاهد این آزمایشات در دو نوبت و با چهار تکرار انجام گرفت. جدایه‌هایی که بیشترین تأثیر را در جلوگیری از تفریخ تخم و هم‌چنین باعث بالاترین میزان مرگ‌ومیر لارو سن دو نماتود شدند به عنوان جدایه‌های مؤثر انتخاب و در مراحل دیگر تحقیق استفاده گردید.

۲- تأثیر کشت صاف شده جدایه‌های آنتاگونیست بر تفریخ تخم و بقای لارو نماتود

کشت ۲۴ ساعته از باکتری‌های آنتاگونیست، رشد کرده در محیط کشت Nutrient broth ابتدا به مدت ده دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس از فیلتر ۰/۲ میکرومتر عبور داده شد تا سلول‌های باکتری حذف گردد. پنج میلی‌لیتر از فیلتر شده کشت مذکور به

همراه یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاوی ۱۰ ±۱۰۰ عدد تخم و لارو ضدعفونی شده سطحی تهیه شده، به طور جداگانه در هر تشتک پتری ریخته شده و تعداد تخم‌های تفریخ شده پس از گذشت چهار روز و تعداد لاروهای زنده پس از گذشت ۷۲ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. در تشتک شاهد از محیط Nutrient broth استفاده گردید. این آزمایش‌ها در دو نوبت و چهار تکرار برای هر جدایه انجام گرفت.

ج- بررسی تأثیر جدایه‌های باکتریایی بر فعالیت نماتود ریشه‌گرهی *M. incognita* روی گیاه گوجه‌فرنگی رقم ارلی‌اُربانا، در گلخانه

در این بررسی از نه جدایه باکتریایی انتخاب شده از ۵۳ جدایه، که اثر آنتاگونیستی آنها بر تفریخ تخم و مرگ‌ومیر لارو سن دو نماتود ریشه گرهی که در بررسی‌های اولیه آزمایشگاهی مثبت ارزیابی شده بود (جدول ۱)، و جدایه *P. fluorescens* CHA0 نیز به عنوان کنترل مثبت در این آزمایشات استفاده گردید. بررسی تأثیر جدایه‌های آنتاگونیست بر فعالیت نماتود ریشه‌گرهی طی دو آزمون در خاک مخلوط و خاک مزرعه صورت گرفت.

۱- آزمون اول (خاک مخلوط)

در این آزمون از خاک مخلوط سترون (اتوکلاو شده) و غیرسترون، شامل ماسه و خاک مزرعه به نسبت ۳ به ۱ استفاده شد. مایه‌زنی گیاهچه‌های درون گلدان ۱/۵ کیلوگرمی در مرحله چهار برگی، با اضافه کردن ۱۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون جدایه‌های باکتریایی به رقت 10^{8} CFU ml^{-1} به حفره‌های ایجاد شده در مجاورت گیاهچه‌ها انجام شد. در گلدان شاهد از محیط کشت Nutrient broth استفاده گردید. یک هفته پس از انجام مایه‌زنی باکتری‌ها، تعداد ۶۰۰۰ تخم و لارو سن دو نماتود (چهار تخم و لارو به ازای هر گرم خاک) در اطراف گیاهچه رها شد. گلدان‌ها در شرایط گلخانه در دمای ۵°C ± ۲۸ به مدت ۶۰ روز نگهداری شدند. آبیاری بر اساس نیاز گیاه انجام شد. در طول دوره رشدی گیاه، در مرحله دو برگی و ده روز بعد از مایه‌زنی باکتری، از محلول کود شیمیایی کامل حاوی عناصر NPK به نسبت برابر به میزان یک در هزار همراه با آب آبیاری به خاک گلدان‌ها اضافه گردید. آزمایش با ۲۲ تیمار و پنج تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. پس از گذشت ۶۰ روز گیاهچه‌ها به آزمایشگاه منتقل و شاخص‌های وزن خشک شاخساره، وزن‌تر ریشه، تعداد گال، تعداد کیسه تخم، در گرم بافت ریشه، و نیز فاکتور تولیدمثل (P_f /P_i؛ نسبت جمعیت اولیه نماتود به جمعیت نهایی نماتود) اندازه‌گیری و محاسبه شد.

۲- آزمون دوم (خاک مزرعه)

این آزمون همانند آزمون قبل انجام گرفت، با این تفاوت که به جای خاک مخلوط از خاک سترون و غیرسترون مزرعه استفاده گردید.

د- بررسی کلنیزاسیون ریشه

شصت روز پس از مایه‌زنی جدایه‌های باکتریایی، به منظور تعیین میزان کلنیزاسیون ریشه توسط جدایه‌ها، اقدام به تهیه سری رقت از یک گرم بافت ریشه گردید. بدین منظور ریشه‌ها به قطعات ۲-۱ سانتی‌متری تقسیم و یک گرم از ریشه‌های خُرد شده به لوله آزمایشی حاوی ۹ میلی‌لیتر آب مقطر سترون اضافه گردید و به مدت یک

جدول ۱. مشخصات جدایه‌های باکتریایی مورد استفاده در این تحقیق.

Table 1. Characteristics of the rhizobacteria isolates used in this study.

جدایه باکتریایی Bacterial isolate	شماره جدایه Code No.	محل جمع‌آوری Sampling site.	گیاه Plant
Pseudomonas fluorescens	PF-7	Shiraz, Fars	Tomato
Serratia sp.	S-8	Shiraz, Fars	Tomato
Pseudomonas fluorescens	PF-19	Marvdast, Fars	Tomato
Pseudomonas fluorescens	PF-20	Marvdast, Fars	Tomato
Bacillus subtilis	BS-23	Marvdast, Fars	Tomato
Bacillus brevis	BB-26	Marvdast, Fars	Tomato
Pseudomonas fluorescens	PF-32	Varamin	Cucumber
Pseudomonas putida	PP-51	Varamin	Egg plant
Pseudomonas fluorescens	PF-53	Varamin	Egg plant
Pseudomonas fluorescens	CHA0	*	-

*Bacterial collection of Department of Plant Protection, Shiraz University

ساعت بر روی دستگاه شیکر قرار گرفت تا رقت 10^{-1} به دست آید. بعد از گذشت این زمان، سوسپانسیون حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در محل ثابتی قرار گرفت تا دو فاز تشکیل دهد. سپس به کمک میکروپیپت سترون یک میلی‌لیتر از فاز بالایی سوسپانسیون را به نُه میلی‌لیتر آب مقطر سترون اضافه کرده تا رقت 10^{-2} نیز آماده گردد. به همین ترتیب تا رقت 10^{-3} از سوسپانسیون اولیه تهیه شد. پس از تهیه این سری رقت‌ها، ۵۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون به‌دست آمده از رقت 10^{-3} روی محیط کشت محیط نوترینت آگار حاوی ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر آنتی‌بیوتیک مناسب ریخته شد و توسط لوله L مانند در تمام سطح پتری پخش گردید. سپس ۴۸ ساعت در دمای ۲۵°C نگاه داشته شد. جداسازی باکتری‌ها با توجه به شکل ظاهری و رنگ پرگنه‌ها انجام گرفت و تعداد پرگنه‌های مربوط به هر جدایه در پنج تکرار ثبت گردید.

ه) محاسبات آماری

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین مربوط به تأثیر جدایه‌های باکتریایی بر تفریخ تخم و مرگ‌ومیر لارو سن دو به روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD ،P< ۰/۰۱) و با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 انجام گرفت.

تجزیه آماری متغیرهای اندازه‌گیری شده در آزمون‌های گلخانه‌ای (شاخص‌های رویشی گیاه) به روش تجزیه واریانس انجام شد. در مورد شاخص‌های تعداد گال و کیسه تخم از روش خطی تعمیم یافته (generalized linear models) و در مورد شاخص‌های تخم در گرم ریشه و فاکتور تولیدمثل از روش غیرپارامتری آزمون رتبه‌ای ویلکوکسون (Wilkoxon rank test) با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 انجام گرفت.

نتایج

الف- شناسایی جدایه‌های باکتری

در این بررسی مجموعاً ۵۳ جدایه باکتریایی، شامل ۱۳

جدایه از مزرعه گوجه‌فرنگی منطقه کفترک شیراز، ۱۶ جدایه از مزرعه گوجه‌فرنگی مرودشت فارس، ۱۳ جدایه از گلخانه خیار و ۱۱ جدایه از مزرعه بادمجان ورامین جدا گردید. از این تعداد نه جدایه از گونه‌های *P. fluorescens*، *P. putida*، *Bacillus subtilis*، *B. brevis* و *Serratia* sp.، که در آزمایش‌های اولیه بهترین تأثیر بر تفریخ تخم و مرگ‌ومیر لارو سن دو داشتند، شناسایی و همراه با جدایه *P. fluorescens* CHA0 در آزمایشات استفاده گردید (جداول ۱-۴). لازم به ذکر است که شناسایی جدایه S8 در حد جنس انجام شد.

ب- بررسی تأثیر جدایه‌های باکتری بر نماتود ریشه گرهی *M. incognita* در شرایط آزمایشگاهی

۱- تأثیر جدایه‌های باکتری بر تفریخ تخم نماتود

تجزیه آماری بین جدایه‌های آنتاگونیست نشان داد که بیشترین میزان بازدارندگی از تفریخ تخم پس از چهار روز در جدایه CHA0 دیده می‌شود که تنها نسبت به جدایه‌های PF7 و S8 از لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌دار بود (نمودار ۱).

۲- تأثیر جدایه‌های باکتری بر فعالیت لارو سن دو نماتود

تجزیه آماری اثر جدایه‌های آنتاگونیست روی مرگ ومیر لارو سن دو نماتود در شرایط آزمایشگاهی نشان داد پس از گذشت ۷۲ ساعت، بیشترین میزان مرگ‌ومیر لاروها توسط جدایه CHA0 حاصل شد. بعد از آن جدایه‌های PF51، S8 و BS23 قرار داشتند که از نظر آماری با جدایه‌های PF19، PF20 و PP53 اختلاف معنی‌داری نداشتند (نمودار ۲).

۳- تأثیر کشت صاف شده جدایه‌های باکتریایی بر تفریخ تخم و بقای لارو سن دو نماتود

نتایج بررسی آماری نشان داد در بین جدایه‌های آنتاگونیست بیشترین درصد جلوگیری از تفریخ تخم مربوط به جدایه CHA0 و S8 می‌باشد که از نظر آماری با جدایه‌های PF51 و BS23 اختلاف معنی‌داری ندارند (نمودار ۳). نتایج بررسی میزان مرگ‌ومیر لارو سن دو ناشی از تأثیر صاف‌شده جدایه‌های باکتریایی نشان داد که جدایه CHA0 با ۷۱٪ خاصیت کشندگی (۵۳٪ بیشتر از تیمار شاهد) به عنوان بهترین جدایه عمل نموده و با جدایه PP51 با ۶۶/۸٪ خاصیت کشندگی (۴۸/۸٪ بیشتر از تیمار شاهد) که در رتبه بعدی قرار دارد از لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشد (نمودار ۳).

ج- بررسی تأثیر جدایه های باکتریایی بر فعالیت نماتود ریشه گرهی (*M. incognita*) روی گیاه گوجه‌فرنگی رقم ارلی‌اُربانا، درگلخانه

۱- آزمون اول (خاک مخلوط)

تأثیر بر شاخص‌های رویشی گیاه (آزمون اول)

تجزیه پارامتریک صفات رویشی گیاه نشان داد که اختلاف بین تیمارهای باکتری و باکتری- نماتود، از لحاظ آماری ($P<0.01$) معنی‌دار می‌باشد. نتایج نشان داد که استفاده از جدایه‌های S8، CHA0 و PP51 در خاک سترون و غیرسترون، هم‌چنین تیمارهای PF7 و PF19 در خاک غیرسترون سبب افزایش معنی‌دار وزن تر ریشه نسبت به شاهد گردید. وزن خشک گیاهان مایه‌زنی شده توسط جدایه CHA0 در خاک غیرسترون، هم‌چنین در تیمارهای S8، PF19، BS23، CHA0، PP51 و PF53 نسبت به سایر تیمارها و شاهد افزایش معنی‌داری نشان دادند (جدول ۵).

جدول ۲. آزمون‌های بیوشیمیایی شناسایی جنس‌های باکتری.

Table 2. Biochemical tests for identification of the bacterial genera (Schaad *et al*. 2001).

آزمون Test	*Serratia*	*Bacillus*	*Pseudomonas*
واکنش گرم Gram reaction	-	+	-
تولید رنگدانه Pigments production	+	-	+
اکسیداز Oxidase	-	-	+
واکنش فوق حساسیت Hypersensitive reaction	-	-	-
EMB	+	-	-
O/F	بی‌هوازی اختیاری	بی‌هوازی اختیاری	هوازی اجباری
تولید ایندول Indol production	-	-	-/+
متیل رد Methyl-red	-	-	-
لسیتیناز Lecithinase	+	-	+
استفاده از سیترات Utilization of Citrate	+	+	+
هیدورلیز نشاسته Starch hydrolysis	+	+	+/-

جدول ۳. آزمون‌های بیوشیمیایی تشخیص گونه‌های جنس *Pseudomonas*.

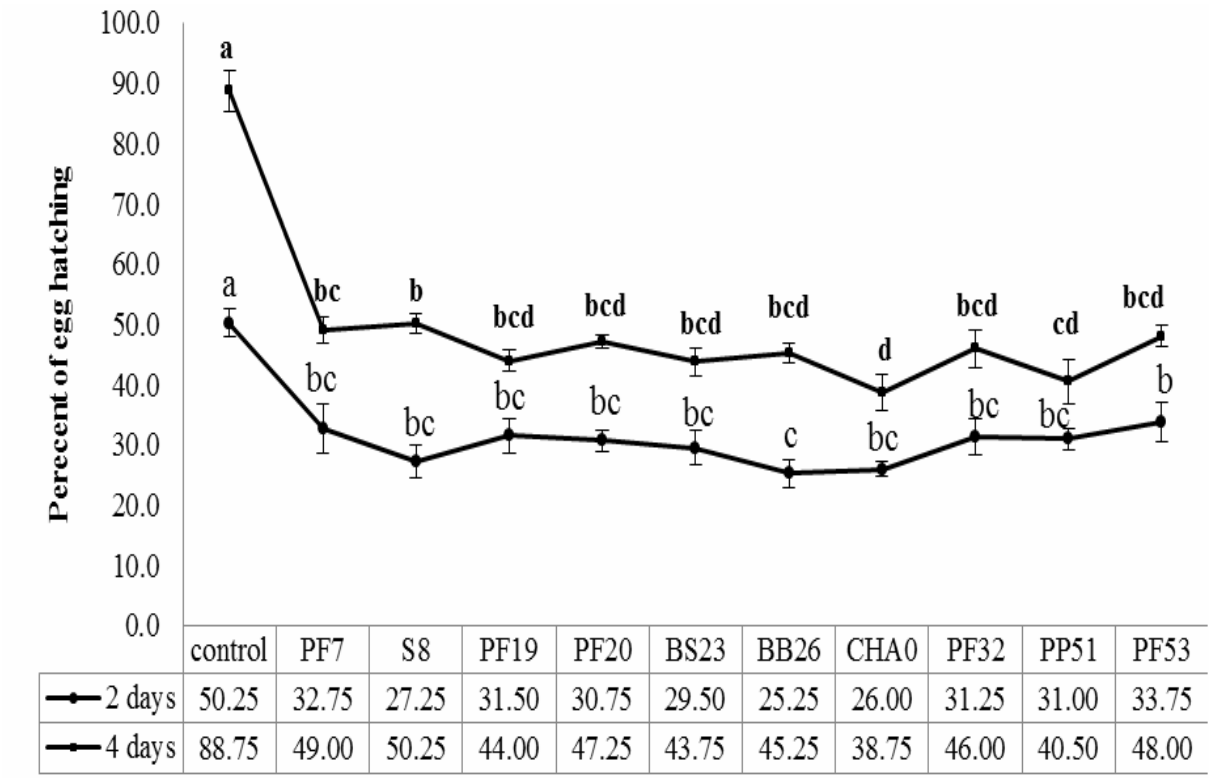
Table 3. Biochemical tests for identification of *Pseudomonas* species.

آزمون (Test)	PP51	CHA0	PF7	PF19	PF 20	PF32	PF53
تولید رنگدانه‌های غیرفلورسنت قابل انتشار No-diffusible and non- fluorescent pigment	-	-	-	+	-	-	−
توانایی ذوب ژلاتین Gelatin liquefaction	-	+	+	+	+	+	+
استفاده از ال-آرابینوز Utilization of L-arabinose	-	+	+	+	+	+	+
استفاده از دی-گالاکتوز Utilization of D-galactose	-	+	+	+	+	+	+
استفاده از ترهالوز Utilization of Trehalose	-	+	-	+	+	+	+
استفاده از سوربیتول Utilization of Sorbitol	-	+	+	+	+	+	+

جدول ۴. آزمون‌های بیوشیمیایی تشخیص گونه‌های جنس ***Bacillus***.

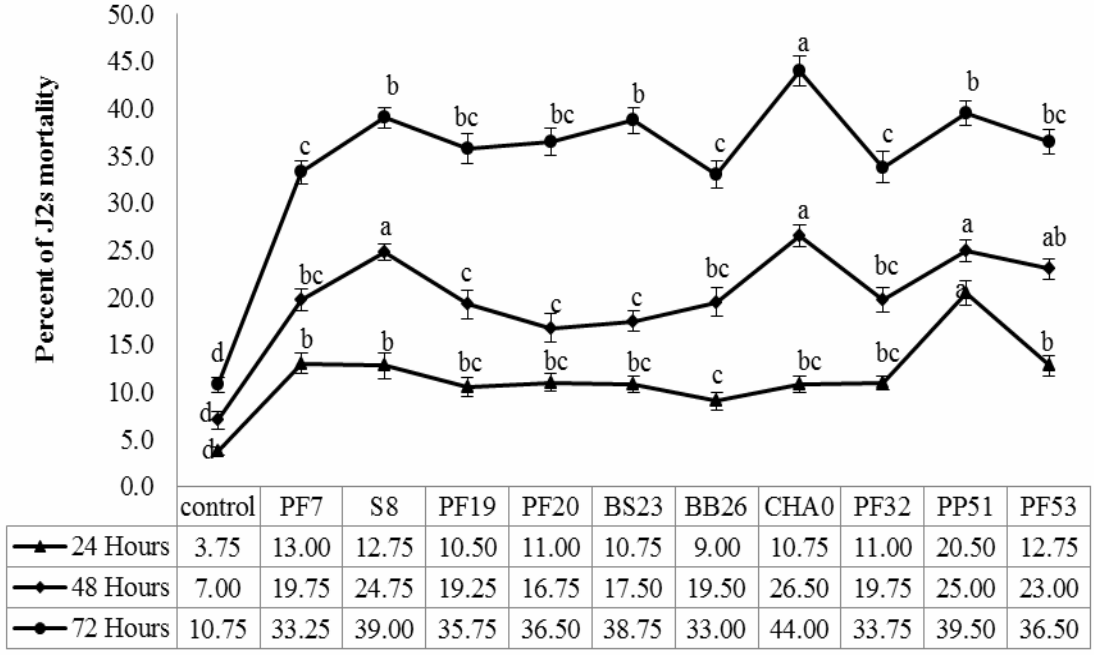
Table 4. Biochemical tests for identification of *Bacillus* species.

BB26	BS23	آزمون Test
+	+	هیدرولیز نشاسته Starch hydrolysis
+	+	استفاده از سیترات Utilization of citrate
-	+	رشد در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد Growth at 45°C
-	+	رشد در غلظت ۷ درصد نمک طعام Growth in 7% NaCL
+	+	تولید اسید از قند مانیتول Acid from Mannitol



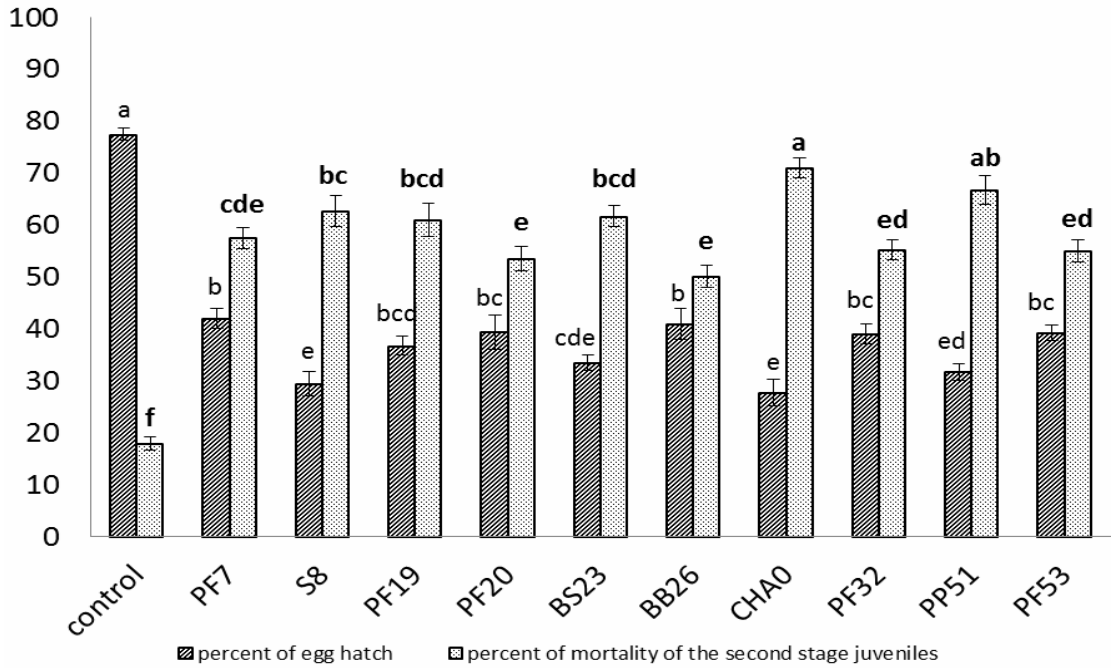
نمودار ۱. تأثیر جدایه‌های باکتریایی بر تفریخ تخم نماتود ریشه‌گرهی ***Meloidogyne incognita***.

Fig. 1. Effect of rhizobacteria isolates on egg hatching of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*.



نمودار ۲. تأثیر جدایه‌های باکتریایی بر مرگ و میر لارو سن دو نماتود ریشه‌گرهی ***Meloidogyne incognita***.

Fig. 2. Effect of rhizobacteria isolates on the mortality of the second stage juveniles (J2s) of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*.



نمودار ۳. تأثیر کشت صاف‌شده جدایه‌های آنتاگونیست بر تفریخ تخم و مرگ‌ومیر لارو سن دو نماتود ریشه گرهی، به ترتیب پس از گذشت چهار روز و ۷۲ ساعت.

Fig. 3. Effect of filtered cultures of rhizobacteria isolates on the egg hatching and mortality of the second stage juveniles of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, after four days and 72 hours, respectively.

تأثیر بر شاخص‌های نماتود (آزمون اول)

تجزیه غیرپارامتریک شاخص‌های نماتود نشان داد که اثر خاک و اثر جدایه در تمامی صفات از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P< 0.01$). نتایج نشان داد استفاده از همه جدایه‌های باکتری در خاک مخلوط سترون و غیرسترون باعث کاهش معنی‌دار تعداد گال در گرم ریشه گیاهان مایه‌زنی شده نسبت به شاهد گردید. بیشترین کاهش در گیاهان مایه‌زنی شده، به ترتیب توسط جدایه‌های CHA0، PP51، BS23، PF19 و PF32 که در یک سطح آماری قرار دارند مشاهده گردید (جدول ۶).

هم‌چنین نتایج نشان داد همه جدایه‌های باکتری در خاک سترون و غیرسترون باعث کاهش معنی‌دار تعداد تخم در گرم ریشه گیاهان مایه‌زنی شده نسبت به شاهد گردید. بیشترین کاهش در گیاهان مایه‌زنی شده، به ترتیب با جدایه‌های CHA0 وPP51 که در یک سطح آماری قرار دارند مشاهده گردید (جدول ۶).

استفاده از تمامی جدایه‌ها در خاک سترون سبب کاهش معنی‌دار فاکتور تولیدمثل گردید. منتها در خاک غیرسترون تنها استفاده از جدایه‌های PP51، CHA0، PF19، BS23، PF32 و S8 سبب کاهش معنی‌دار فاکتور تولیدمثل نسبت به تیمار شاهد گردید. بیشترین کاهش در فاکتور تولیدمثل مربوط به جدایه‌های PP51، CHA0 و PF19 است که در یک سطح آماری قرار دارند (جدول ۶).

۲- آزمون دوم (خاک مزرعه)

تأثیر بر شاخص‌های رویشی گیاه (آزمون دوم)

تجزیه پارامتریک صفات رویشی گیاه نشان داد که اثر خاک در تیمارهای باکتری و باکتری-نماتود، از لحاظ آماری ($P<0.01$) معنی‌دار می‌باشد. به علاوه اثر جدایه‌ها بر تمام صفات گیاهی معنی‌دار است. نتایج نشان داد استفاده از تمامی جدایه‌ها در خاک سترون سبب افزایش معنی‌دار وزن‌تر ریشه نسبت به شاهد گردید. منتها بین جدایه‌های PF20، PF19 و BB26 و شاهد در خاک غیرسترون از نظر آماری اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. هم‌چنین استفاده از همه جدایه‌ها در خاک سترون باعث افزایش وزن خشک شاخساره نسبت به شاهد گردید. ولی جدایه‌های PF7، PF19، BB26 و PF53 در خاک غیرسترون مزرعه اختلاف معنی‌داری با شاهد خود نداشتند (جدول ۷).

تأثیر بر شاخص‌های نماتود (آزمون دوم)

تجزیه غیرپارامتریک شاخص‌های نماتود نشان می‌دهد اثر خاک و اثر جدایه در تمامی صفات از لحاظ آماری معنی‌دار است ($P<0.01$). نتایج آزمون نشان داد همه تیمارها در خاک سترون و غیرسترون مزرعه سبب کاهش معنی‌دار تعداد گال در ریشه گیاهان آلوده به نماتود ریشه‌گرهی نسبت به شاهد گردیده‌اند. جدایه PP51 در خاک سترون و جدایه CHA0 در خاک غیرسترون کمترین تعداد گال در گرم ریشه را داشتند. هم‌چنین همه تیمارها در خاک سترون باعث کاهش تعداد کیسه تخم نسبت به شاهد گردید. کمترین تعداد کیسه تخم در خاک سترون مربوط به جدایه‌های PP51 و CHA0 است که از نظر آماری در یک سطح قرار دارند. منتها در خاک غیرسترون فقط جدایه‌های PP51، CHA0، BS23، PF19 و PF32 کاهش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان دادند. کاربرد همه جدایه‌ها در خاک سترون مزرعه سبب کاهش معنی‌دار فاکتور تولیدمثل شد. منتها در خاک غیرسترون جدایه‌های PF7، BB26 و PF53 اختلاف معنی‌داری نسبت به شاهد نداشتند (جدول ۸).

جدول ۵. اثر جدایه‌های باکتری برروی شاخص‌های رویشی گیاه گوجه‌فرنگی رقم ارلی‌اربانا آلوده به *Meloidogyne incognita* در آزمون اول (خاک مخلوط سترون و غیرسترون).

Table 5. Effect of several rhizobacteria on growth parameters of tomato cv. Early Urbana, infected with *Meloidogyne incognita* in the first test (sterile and non-sterile mixed soils)

جدایه باکتری Bacterial isolates	وزن‌تر ریشه (گرم) Fresh root weight (g)		وزن خشک شاخساره (گرم) Dried shoot weight (g)	
	Sterile soil	Non-sterile soil	Sterile soil	Non-sterile soil
control	6.94[c]	7.90[f]	4.82[c]	5.70[b]
PF7	8.75[abc]	10.13[cde]	5.79[abc]	6.28[ab]
S8	11.13[ab]	13.13[a]	5.92[ab]	6.72[ab]
PF19	8.50[abc]	11.11[bc]	5.95[ab]	6.94[ab]
PF20	8.16[bc]	8.14[ef]	5.56[abc]	5.90[b]
BS23	9.56[abc]	8.75[def]	6.55[a]	6.46[ab]
BB26	7.19[c]	7.24[f]	5.21[bc]	6.41[ab]
CHA0	11.07[ab]	12.64[ab]	6.14[ab]	7.41[a]
PF32	8.54[abc]	9.10[def]	5.81[abc]	6.71[ab]
PP51	11.37[a]	10.42[cd]	5.98[ab]	6.49[ab]
PF53	8.55[abc]	8.47[def]	5.57[ab]	6.40[ab]

اعداد میانگین پنج تکرار است.

اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون بر حسب آزمون دانکن در سطح ۱٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند.

- Data are averages of five replicates.
- Values with similar letters in each column are not significantly different when subjected to Duncan ($P < 0.01$).

کلونیزاسیون ریشه

نتایج نشان داد میزان کلونیزاسیون ریشه توسط جدایه‌های باکتریایی در تیمارهای فاقد نماتود در مقایسه با تیمارهای دارای نماتود بیشتر بود (جدول۹).

بحث

گونه *Pseudomonas fluorescens* یکی از گونه‌های مؤثر بر کاهش فعالیت نماتودهای ریشه گرهی است. اکثر جدایه‌های مؤثر بر تفریخ تخم و مرگ و میر لاروهای سن دو نماتود ریشه گرهی *M. incognita* به *P. fluorescens* تعلق داشته و در بین آنها تأثیر جدایه CHA0 از سایرین بیشتر بوده است. نتایج این آزمایش با مطالعات قبلی که در آن تأثیر جدایه‌های باکتریایی بر گونه *M. javanica*، بررسی گردیده بود تطابق کامل دارد (*مجذوب و همکاران ۲۰۱۱*). علاوه بر جدایه‌های *P. fluorescens*، گونه *Bacillus subtilis* و *Serratia* sp. نیز از گونه‌های مؤثر می‌باشند.

علاوه بر تأثیر مستقیم، متابولیت‌های ترشح شده رایزوباکتری‌ها نیز بر تفریخ تخم و مرگ و میر لاروها مؤثر بوده و میزان تأثیر آنها با گذشت زمان افزایش می‌یابد. بررسی تأثیر صاف شده کشت نشان داد که جدایه‌های CHA0، *Serratia* sp.، *P. putida* PP51 و *B. subtilis* BS23 سبب کاهش درصد تفریخ تخم شده و

جدول ۶. اثر جدایه‌های باکتری بر روی شاخص‌های *Meloidogyne incognita* بر روی گیاه گوجه‌فرنگی رقم ارلی‌اربانا در آزمون اول (خاک مخلوط سترون و غیرسترون).

Table 6. The effect of rhizobacteria isolates on indices of *Meloidogyne incognita* on tomato, cultivar Early Urbana, in the first test (sterilized and non-sterilized mixed soil).

جدایه باکتری Bacterial isolates	تعداد گال در گرم ریشه Galls/g of roots		تعداد کیسه تخم در گرم ریشه Egg masses/g of roots		فاکتور تولیدمثل Reproductive factor	
	Sterilized soil	Non-sterilized soil	Sterilized soil	Non-sterilized soil	Sterilized soil	Non-sterilized soil
control	150.2[a]	137.8[a]	111.6[a]	100.2[a]	76.8[a]	64.2[a]
PF7	96.2[bcd]	98.4[bcd]	85.6[bcd]	79.6[b]	53.1[bc]	53.6[ab]
S8	90.4[cde]	94.8[bcde]	81.4[bcd]	73.6[bc]	57.1[b]	48.8[bc]
PF19	82.4[def]	86.2[def]	76.8[bcd]	63.2[cd]	39.1[d]	41.1[bcd]
PF20	101.2[bc]	104.4[bc]	88.0[bc]	80.8[b]	61.5[b]	53.7[ab]
BS23	80.4[def]	84.0[def]	70.2[cd]	70.6[bcd]	44.5[cd]	46.8[bc]
BB26	105.2[b]	110.8[b]	95.8[ab]	82.0[b]	59.6[b]	54.0[ab]
CHA0	70.4[f]	75.6[f]	45.2[e]	46.8[e]	37.6[d]	36.6[cd]
PF32	85.0[cdef]	90.4[cdef]	81.6[bcd]	68.0[bcd]	52.6[bc]	47.0[bc]
PP51	77.2[ef]	79.8[ef]	63.8[de]	59.2[de]	36.0[d]	32.7[d]
PF53	104.0[b]	109.0[b]	89.6[bc]	78.8[b]	62.3[b]	53.7[ab]

اعداد میانگین پنج تکرار است.

اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون بر حسب آزمون دانکن در سطح ۱٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند.

- Data are means of five replications.
- Values followed by the same letters in each column are not significantly different (P = 0.01).

جدایه‌های CHA0، *P. putida* PP51، *Serratia* sp. و *B. subtilis* BS23 سبب افزایش درصد مرگ‌ومیر لاروهای سن دو نماتود شدند. این نتایج با آزمایش‌های انجام شده توسط سایر پژوهشگران تطابق دارد. قراردادن تخم‌های نماتود *M. graminicola* در مقابل متابولیت‌های ثانویه باکتری *Bacillus megaterium* موجب کاهش ۶۰٪ تفریخ تخم این نماتود شده است (Padgham & Sikora 2007). هم‌چنین صاف‌شده کشت استرین Bc-2 باکتری *Burkholderia cepacia* سبب کاهش تفریخ نماتود *M. incognita* در شرایط آزمایشگاهی گردیده است (Meyer *et al.* 2000). هم‌چنین استرین IE-6 گونه *Pseudomonas aeruginosa* موجب مرگ ۵۵٪ لاروهای سن دو *M. javanica* در شرایط آزمایشگاهی گردیده است (Siddiqui *et al.* 2001).

نتایج آزمون‌های گلخانه‌ای نشان داد صفات رویشی گیاهان کشت شده در خاک غیرسترون نسبت به خاک سترون تفاوت داشت. هم‌چنین بررسی شاخص‌های نماتودی نشان داد که این صفات در خاک سترون در سطح بالاتری قرار دارند. به نظر می‌رسد که در خاک غیرسترون به علت وجود میکروارگانیسم‌های دیگر و تعامل بین آنها در رقابت بر سر کسب مواد غذایی و استقرار در فراریشه، فعالیت نماتود تا حدی کاهش یابد،

جدول ۷. اثر جدایه‌های باکتری بر روی شاخص‌های رویشی گیاه گوجه‌فرنگی رقم ارلی‌اربانا آلوده به *Meloidogyne incognita* در آزمون دوم (خاک مزرعه سترون و غیرسترون).

Table 7. Effect of several rhizobacteria isolates on growth of infected tomato, cultivar Early Urbana, with *Meloidogyne incognita* in the second test (sterilized and non-sterilized farm soil).

جدایه باکتری Bacterial isolate	وزن‌تر ریشه (گرم) Fresh root weight (g.)		وزن خشک شاخساره (گرم) Dried shoot weight (g.)	
	Sterilized soil	Non-sterilized soil	Sterilized soil	Non-sterilized soil
control	7.71[d]	11.49[d]	3.64[d]	5.28[c]
PF7	11.94[abc]	13.98[ab]	4.54[c]	5.83[bc]
S8	13.20[a]	14.83[a]	5.96[ab]	6.87[a]
PF19	10.87[bc]	12.40[cd]	5.33[bc]	5.76[bc]
PF20	11.81[abc]	12.94[bcd]	4.60[c]	6.37[ab]
BS23	12.55[ab]	14.26[ab]	6.49[a]	7.10[a]
BB26	10.76[c]	11.64[d]	4.53[c]	5.35[c]
CHA0	12.08[abc]	14.10[ab]	6.06[ab]	6.83[a]
PF32	11.67[abc]	14.18[ab]	49.12[c]	6.27[a]b
PP51	13.00[a]	14.91[a]	6.18[ab]	7.08[a]
PF53	11.55[abc]	13.50[abc]	4.63[c]	5.98[bc]

اعداد میانگین پنج تکرار است.

اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون بر حسب آزمون دانکن در سطح ۱٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند.

- Data are means of five replications.
- Values followed by the same letters in each column are not significantly different (P = 0.01).

در صورتی‌که در خاک سترون به علت از بین رفتن بسیاری از میکروارگانیسم‌ها، فرصت مناسب‌تری جهت فعالیت نماتود فراهم می‌گردد. در مجموع گیاهان دارای علایم ریشه‌گرهی و مایه‌زنی شده توسط جدایه‌ها، از صفات رویشی بهتر و شاخص‌های نماتودی پایین‌تری در مقایسه با گیاهان بدون باکتری برخوردار بودند که در مورد بسیاری از جدایه‌های به‌کار گرفته شده این اثر مشاهده شد.

در تحقیق حاضر به‌کارگیری جدایه‌های *P. putida* PP51، *B. subtilis* BS23، CHA0، *P. fluorescens* PF19 و *Serratia* sp. سبب ایجاد بهترین شاخص‌های رویشی گیاه (به ویژه وزن خشک شاخساره) در تیمار با نماتود و بدون نماتود شدند. نکته قابل توجه این بود که وزن تر ریشه در گیاهان تیمارشده توسط جدایه *Serratia* sp. افزایش معنی‌دار بیشتری را در مقایسه با جدایه‌های دیگر نشان داد. این ویژگی احتمالاً به سازوکار این جدایه در تحریک گیاه برای افزایش ریشه‌زایی برمی‌گردد. در واقع علی‌رغم این‌که گیاهان مایه‌زنی‌شده توسط جدایه *Serratia* sp. کاهش ۳۱٪ تعداد گال ایجاد شده را نشان دادند، اما فاکتور تولیدمثل در این تیمار کاهش ۲۴٪ را نسبت به تیمار شاهد در خاک غیرسترون ایجاد نمود. این طور به نظر می‌رسد که استفاده از جدایه *Serratia* sp. ضمن افزایش میزان رشد ریشه شرایط را جهت فعالیت بهتر نماتود فراهم ساخته و با وجود تأثیری که در کاهش تعداد

جدول ۸ . اثر جدایه‌های باکتری بر روی شاخص‌های *Meloidogyne incognita* بر روی گیاه گوجه‌فرنگی رقم ارلی‌اربانا در آزمون دوم (خاک مزرعه سترون و غیرسترون).

Table 8. The effect of several rhizobacteria isolates on indices of *Meloidogyne incognita* on tomato, cultivar Early Urbana in the second test(sterilized and non-sterilized farm soil).

جدایه‌های باکتری Bacterial isolate	تعداد گال در گرم ریشه Galls/g of roots		تعداد کیسه تخم در گرم ریشه Egg masses/g of roots		فاکتور تولیدمثل Reproductive factor	
	Sterilized soil	Non-sterilized soil	Sterile soil	Non-sterilized soil	Sterilized soil	Non-sterilized soil
control	100.4_a	77.8^{a}	88.6^{a}	70.4^{a}	54.1^{a}	48.5^{a}
PF7	69.8^{bcd}	52.8^{bc}	67.0^{bc}	58.4^{ab}	37.9^{bc}	40.8^{ab}
S8	67.0^{bcd}	50.6^{bcd}	59.0^{bcde}	54.2^{abc}	34.7^{bc}	34.7^{bcd}
PF19	65.4^{bcd}	42.8^{bcd}	57.0^{cde}	52.4^{bc}	36.3^{bc}	35.8^{bcd}
PF20	70.6^{bc}	53.2^{bc}	70.6^{b}	58.6^{ab}	41.4^{bc}	39.6^{bc}
BS23	59.0^{cd}	38.6^{cd}	53.2^{de}	50.0^{bc}	36.7^{bc}	35.7^{bcd}
BB26	79.0^{b}	59.0^{b}	70.4^{b}	61.8^{ab}	44.2^{b}	41.2^{ab}
CHA0	56.2^{cd}	35.8^{d}	48.2^{ef}	47.6^{bc}	34.1^{bc}	30.9^{cd}
PF32	66.2^{bcd}	47.2^{bcd}	64.0^{bcd}	52.6^{b}_{c}	35.9^{bc}	37.5^{bcd}
PP51	53.8^{d}	36.6^{cd}	37.6^{f}	40.0^{c}	32.1^{c}	29.0^{d}
PF53	72.6^{bc}	57.0^{b}	70.2^{b}	62.4^{ab}	42.6^{b}	40.1^{ab}

اعداد میانگین پنج تکرار است.

اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون بر حسب آزمون دانکن در سطح ۱٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند.

- Data are means of five replications.
- Values followed by the same letters in each column are not significantly different (P = 0.01).

جدول ۹. میزان کلونیزاسیون ریشه گوجه‌فرنگی رقم ارلی اربانا توسط جدایه‌های مختلف باکتریایی ۶۰ روز بعد از انجام مایه‌زنی.

Table 9.Colonization of tomato roots (cultivar Early Urbana)by different isolates of rhizobacteria, 60 days after inoculation.

	Without nematode	With nematode
جدایه‌های باکتری Bacterial isolate	CFU/gr	CFU/gr
PP51	2.38×10^{4a}	2.11×10^{4} a
CHA0	$2.19\times10^{4\ ab}$	1.99×10^{4} a
S8	$2.05\times10^{4\ bc}$	1.77×10^{4} b
BS23	$1.89\times10^{4\ cd}$	1.59×10^{4} b
PF19	$1.73\times10^{4\ de}$	1.32×10^{4} c
PF32	$1.67\times10^{4\ ef}$	1.25×10^{4} cd
PF7	$1.58\times10^{4\ efg}$	1.59×10^{4} b
PF20	$1.46\times10^{4\ fgh}$	1.2×10^{4} cd
BB26	$1.38\times10^{4\ gh}$	1.02×10^{4} d
PF53	$1.12\times10^{4\ h}$	$0.09\times10^{4\ d}$

اعداد میانگین پنج تکرار است.

اعداد دارای حروف مشابه در هر ستون بر حسب آزمون دانکن در سطح ۵٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند.

- Data are means of five replications.
- Values followed by the same letters in each column are not significantly different (P = 0.05).

گال تولید شده داشت، لیکن در کاهش فاکتور تولیدمثلی نماتود تغییری ایجاد نکرد.

در رابطه با کلنیزاسیون ریشه، بیشترین میزان آن در تیمارهای دارای نماتود و مربوط به جدایه‌های PP51 و CHA0 بود که نسبت به جدایه‌های دیگر دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشند. این در حالی است که در تیمارهای فاقد نماتود، سایر جدایه‌ها میزان بیشتری از کلنیزاسیون را نشان داده‌اند. برای مثال کلنیزاسیون ریشه توسط جدایه S8 از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با میزان کلنیزاسیون ریشه توسط جدایه CHA0 ندارد.

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که بیشترین کاهش در تعداد گال در گیاهان مایه‌زنی شده توسط جدایه‌های CHA0، *P. putida* PP51، *B. subtilis* BS23، *P. fluorescens* PF19 و *P. fluorescens* PF32 در خاک غیرسترون ایجاد گردید. به علاوه بیشترین کاهش در فاکتور تولیدمثل و در خاک غیرسترون مربوط به جدایه‌های *P. putida* PP51، CHA0، *P. fluorescens* PF19، *B. subtilis* BS23، *P. fluorescens* PF32 و *Serratia* sp. بود که سبب کاهش این شاخص شدند.

جدایه *B. brevis* BB26 با آن‌که در مطالعات آزمایشگاهی یک جدایه مؤثر در بازدارندگی از تفریخ تخم و افزایش‌دهنده مرگ ومیر لارو نماتود بود، در مطالعات گلخانه‌ای، این جدایه چندان مؤثر نبود و تنها سبب کاهش ۱۹٪ تعداد گال و کاهش ۱۶٪ فاکتور تولیدمثلی این نماتود در خاک غیرسترون شد.

با توجه به نتایج تحقیقات مختلف، استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک بومی که قدرت سازگاری با شرایط منطقه را دارا هستند، نتایج بهتری داشته است؛ لذا انتظار می‌رود که بهره‌گیری از جدایه‌های *P. putida* PP51، *P. fluorescens* PF19، *P. fluorescens* PF32، *B. subtilis* BS23 و *Serratia* sp. در کنار سایر روش‌های کنترل فیزیکی، بتواند سهم بسزایی در کاهش خسارت نماتودهای انگل گیاهی را فراهم سازد.

منابع

جهت ملاحظه به صفحات (27-25) متن انگلیسی مراجعه شود.