مقاله تحقیقی

اثر باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) بر نماتد سیستی غلات (*Heterodera avenae*) در شرایط آزمایشگاه و گلخانه

محمد بازگیر[۱]، حسین میرزایی نجفقلی[۲]، کورش عزیزی[۳]، ندا روحانی[۴]، محمد رضا عالیمنش[۵]

۱– دانشجوی دوره کارشناسی ارشد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.

۲، ۳– استادیار، استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.

۴– دانش‌آموخته دوره دکتری، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۵- استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران.

مسئول مکاتبات: حسین میرزایی نجفقلی، ایمیل: mirzaei.h@lu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۱۳ ۱۱(۱)۸۳–۹۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۷

چکیده

یکی از مهمترین عوامل مهم و خسارت‌زای گندم نماتد سیستی غلات با نام علمی *Heterodera avenae* می‌باشد. نماتدهای انگل گیاهی یکی از عوامل مهم محدودکننده رشد غلات در سراسر دنیا به شمار می‌آیند. به منظور کنترل این بیمارگرها از روش‌های زراعی، شیمیایی و کنترل زیستی استفاده می‌شود. باکتری‌های محرک رشد می‌توانند به عنوان عوامل کنترل زیستی بیمارگر نیز نقش ایفا کنند. این باکتری‌ها با عملکردهای مفیدی، مانند کلاته کردن آهن از طریق تولید سیدروفور، انحلال فسفات، تثبیت نیتروژن و تولید آنزیم‌های پروتئاز و کیتیناز به رشد گیاه نیز کمک می‌کنند. در پژوهش حاضر ریشه‌های گندم دارای علائم مشکوک به نماتد سیستی غلات از منطقه دزفول در سال زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۰ جمع‌آوری شد. پس از بررسی‌های اولیه نماتد عامل بیماری شناسایی و تکثیر شد. با توجه به مشخصات ریخت سنجی و ریخت شناسی لاروها و سیست‌ها مخصوصا مخروط انتهایی آن، گونه نماتد *H. avenae* تشخیص داده شد. سپس اثر هفت سویه باکتریایی محرک رشد بومی بر میزان تفریخ تخم و مرگ و میر لاروهای نماتد سیستی غلات درون تشتک پتری در آزمایشگاه بررسی گردید. تاثیر پنج سویه باکتری منتخب براساس آزمون آزمایشگاهی، در گلخانه روی نماتد سیستی غلات همرا با تیمار گوگرد و نماتدکش Nematex EC مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در شرایط آزمایشگاهی سویه‌های باکتریایی توانستند به طور متوسط ۶۲ درصد میزان تفریخ تخم را کاهش دادند. بیشترین کاهش تفریخ تخم را باکتری *Bacillus pumilus* با ۷۳ درصد ایجاد کرد. میزان درصد مرگ و میر لارو ها در آزمون آزمایشگاهی نیز به طور میانگین ۶۳ درصد نشان داده شد که تیمار باکتری *B. pumilus* با ۷۰ درصد بیشترین درصد مرگ و میر را نشان دادند. نتایج بررسی‌های گلخانه‌ای نشان داد که تیمارهای گوگرد-گیاه سالم، گوگرد-نماتد و باکتری *B. pumilus* و *P. fluorescens* در تیمار گیاه سالم و نماتد در خصوصیات ارتفاع بوته، وزن تر و خشک بوته و ریشه بیشترین اثر را داشتند. همچنین بیشترین مقدار کاهش میزان تعداد سیست در تیمار *B. pumilus* با تعداد ۱± ۴۹ عدد سیست مشاهده شد. در بررسی تعداد تخم در سیست بیشترین کاهش تعداد تخم در سیست در تیمارهای Nematex EC و باکتری *B. pumilus* با تعداد ۱±۶۷ و ۲±۱۱۱ مشاهده شد. همچنین در بررسی تعداد لارو زنده در گلدان بیشترین کاهش میزان لارو در تیمار Nematex با ۱± ۸۷ عدد مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: نماتد، کنترل زیستی، گندم، باکتری

مقدمه

گندم با نام علمی *Tritecium aestivum* L. یکی از محصولات مهم و استراتژیک کشور بوده و با ارزش‌ترین ماده خوراکی مردم جهان به خصوص مردم کشورهای جهان سوم است (Shewry, 2009). میزان تولید گندم در سال 2022 در سطح جهانی حدود ۷۵۰ میلیون تن بوده است (FAO, 2023). نماتدهای انگل گیاهی یکی از عوامل مهم محدودکننده رشد غلات به شمار می‌روند. تاکنون نماتدهای انگل گیاهی زیادی از روی غلات گزارش شده‌اند. نماتد سیستی غلات *Heterodera* spp، نماتد مولد گره *Meloidogyne* spp، نماتد گال دانه گندم *Anguina tritici*، و نماتد زخم ریشه *Pratylenchus* spp مهمترین نماتدهای غلات می‌باشند. در جنس *Heterodera* سه گونه مهم *H. avenae*، *H. filipjevi* و *H. latipons* از اهمیت به خصوصی برخوردارند (Nicol, 2008; Nicol & Rivoal, 2008; Rivoal & Cook, 1993). نماتدهای سیستی غلات با حمله به ریشه میزبان موجب کاهش جذب آب و مواد معدنی می‌شوند که در اثر آن گیاه علائم زردی، پژمردگی، رشد ضعیف و کوتاه شدن را نشان می‌دهد. خسارت نماتد سیستی گندم در اندام های هوایی باعث زرد شدن بوته‌ها می‌شود (Fidler, 1963). در این نماتد تخم‌ها می‌توانند در داخل سیست، خصوصاً تحت شرایط خشک و خنک برای چندین سال زنده بمانند. اما لاروهای تفریخ شده چنانچه میزبان در دسترس نباشد، برای چند هفته بیشتر زنده باقی نمی‌مانند (Webster, 1972). باکتری‌های ریزوسفری همراه با اثرات مفید در رشد و توسعه گیاه، به‌عنوان باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) یا (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) شناخته می‌شوند. این گروه از باکتری‌ها قادرند از روش‌های مستقیم یا غیرمستقیم بر رشد گیاه اثرگذار باشند. اثر مستقیم باکتری‌ها شامل تولید یا رهاسازی متابولیت‌های ثانویه نظیر تنظیم‌گرها یا هورمون‌های رشدی و یا تسهیل جذب عناصر غذایی از محیط رشد گیاه می‌باشد. اما تاثیر غیر مستقیم آن‌ها در تحریک رشد گیاه زمانی رخ می‌دهد که از اثرات زیانبار یک یا چندین عامل بیماریزا کاسته یا به کلی بازداشته می‌شود. PGPRها بجز باکتری‌های ریزوبیوم همزیست، شامل باکتری‌های مفید ریزوسفری دیگر از جنس‌های *Bacillus*، *Pseudomonas*، *Azotobacter*، *Acetobacter*، *Enterobacter*، *Herbaspirillum* و *Azospirillum* می‌باشند. در سال‌های اخیر، استفاده از باکتری‌ها به منظور بهبود رشد گیاه در بخش‌های مختلف دنیا افزایش یافته است. مهمترین مسأله در استفاده حداکثری از مزایای این فناوری انتخاب سویه موثر می‌باشد (Chaitanya *et al*., 2015). مطالعات Ahmed *et al*. (2018 & 2019) در سال‌های ۲۰۱۸ و ۲۰۱۹ نشان داد استفاده از باکتری‌های محرک رشد می‌تواند به‌طور میانگین ۷۰ درصد باعث کاهش تعداد سیست‌ها شود. علت اثرگذاری این باکتری‌ها تولید آنزیم‌هایی همچون پروتئاز و کیتیناز می‌باشد (Ahmad *et al*., 2018; 2019; Shewty, 2009). همچنین مطالعات Zhang *et al*. (2015) نشان دهنده اثر کنترلی باکتری‌های محرک رشد درکاهش تفریخ تخم، افزایش مرگ و میر لاروها به‌طور میانگین ۷۰ و ۷۳ درصد می‌باشد. با توجه به ظهور علائم مشکوک به نماتد سیستی غلات در مزارع گندم شهرستان دزفول، هدف مطالعه حاضر جداسازی و شناسایی نماتد عامل بیماری و بررسی روش کنترل زیستی توسط باکتری‌های PGPR در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای این بیمارگر بود.

مواد و روش

جداسازی و شناسایی نماتد سیستی از خاک

در سال زراعی ۱۴۰۱-۱۴۰۰ از مزرعه گندم با علائم مشکوک به نماتد سیستی در شهرستان دزفول نمونه‌ها جمع‌آوری و جداسازی سیست انجام شد. به منظور جداسازی مقدار ۲۵۰ گرم خاک درون ظرف ریخته شد و به آن آب اضافه شد. سپس خاک و آب را به طور کامل مخلوط کرده و بعد از ۳۰ ثانیه آب درون ظرف از الک ۶۰ و ۱۰۰ مش عبور داده و در نهایت محتوی الک ۱۰۰ مش درون تشتک پتری ریخته شد. سپس از استرومیکروسکوپ جهت جداسازی سیست استفاده شد. برای جداسازی لارو از

خاک از روش سینی (Whitehead & Hemming, 1965) استفاده و به منظور بررسی و نگهداری طولانی مدت نمونه‌ها اسلاید تهیه گردید (De Grisse, 1996). با استفاده از مشخصات ریخت‌شناسی، ریخت‌سنجی و برش انتهایی سیست و با استفاده از کلید Zafar Handoo (2002) شناسایی گونه انجام شد.

جداسازی و کشت باکتری

در این بررسی ابتدا از هفت گونه باکتری شامل *Bacillus safensis*، *B. pumilus*، *Exigaobacter calcoaceticus*، *Pseudomonas brassicacearum*، *P. fluorescens*، *Stenotrophomonas* sp. 2 و *Stenotrophomonas* sp. 1 از کلکسیون گیاه پزشکی دانشگاه لرستان استفاده شد. برای کشت باکتری‌ها از محیط کشت نوترینت آگار استفاده شد.

بررسی تاثیر سویه‌های باکتری بر میزان تفریخ تخم نماتد

برای بررسی تأثیر باکتری بر روی تفریخ تخم نماتد، یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون CFU.ml ۱۰^۸ سویه باکتری به همراه یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاوی ۱۰۰ تخم نماتد درون میکروتیوب اضافه شد. برای نمونه شاهد از آب مقطر سترون استفاده گردید. نمونه‌ها در دمای ۱۵ درجه سیلسیوس به مدت یک ماه نگهداری شد. بعد از یک ماه تعداد لاروهای سن دوم تفریخ شده محاسبه گردید. آزمایش به صورت طرح کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد.

بررسی تاثیر سویه‌های باکتریایی بر مرگ و میر لارو سن دوم

یک میلی لیتر از سوسپانسیون CFU.ml ۱۰^۸ سویه باکتری داخل تشتک‌های پتری حاوی ۱۰۰ عدد لارو سن دوم تازه تفریخ شده نماتد ریخته شد. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. تشتک‌ها در دمای ۱۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از گذشت ۲۴ساعت، تعداد لاروهای مرده با استفاده از استرئومیکروسکوپ شمارش شد. برای اطمینان از مرگ ومیر لاروها با یک سوزن به آنها ضربه زده می‌شود تا لاروهای بی حرکتی که شاید فقط غیرفعال شده بودند، جزو نماتدهای مرده محسوب نشوند. آزمایش به صورت طرح کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. برای نمونه شاهد از آب مقطر سترون استفاده گردید.

بررسی اثر سویه‌های مختلف باکتری بر نماتد سیستی گندم در گلخانه

ابتدا بذرهای گندم را با آب وایتکس یک درصد ضد عفونی کرده و سپس در آب مقطر سترون شست و شو داده شد. سپس مایه‌زنی بذور با سوسپانسیون باکتری با جمعیت CFU.ml ۱۰^۸ حاوی یک درصد ژلاتین انجام گرفت (Weller & Cook, 1983). بذور در گلدان‌های حاوی خاک الک شده (هوموس، خاک مزرعه و ماسه به نسبت ۱:۱:۱) کشت شد. ۱۴ روز بعد تعداد ۵۰۰ عدد تخم نماتد سیستی به گلدان‌ها اضافه شد. گلدان‌ها به مدت ۸۰ روز پس از مایه زنی نماتد در گلخانه با دمای حدود ۲۸-۲۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند. میزان آبدهی به گیاهچه‌های مورد آزمایش به اندازه نیاز انجام شد. طول دوره روشنایی به‌طور متوسط ۱۱ ساعت و طول دوره تاریکی به‌طور متوسط ۱۳ ساعت بود. برای بررسی نتایج آزمایش، شاخص‌های رشدی گیاه شامل طول ساقه، طول ریشه، وزن تر ریشه و اندام‌های هوایی، وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی و شاخص‌های تولید مثل نماتد شامل تعداد سیست و تعداد لارو سن دوم در یک کیلوگرم خاک تعیین شد. آزمایش با چهار تیمار باکتریایی، یک تیمار گوگرد و تیمار نماتدکش همراه و بدون نماتد به صورت طرح کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. همچنین گلدان‌های حاوی نماتد و بدون حضور نماتد به ترتیب به عنوان شاهد منفی و مثبت استفاده گردیدند.

محاسبات آماری

داده‌های حاصله با استفاده از نرم افزار آماری SAS ver 9.1 تجزیه و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از پژوهش حاضر در ابتدا شرح گونه شناسایی شده و در ادامه در دو بخش نتایج آزمایشگاهی و گلخانه‌ای آورده شده است.

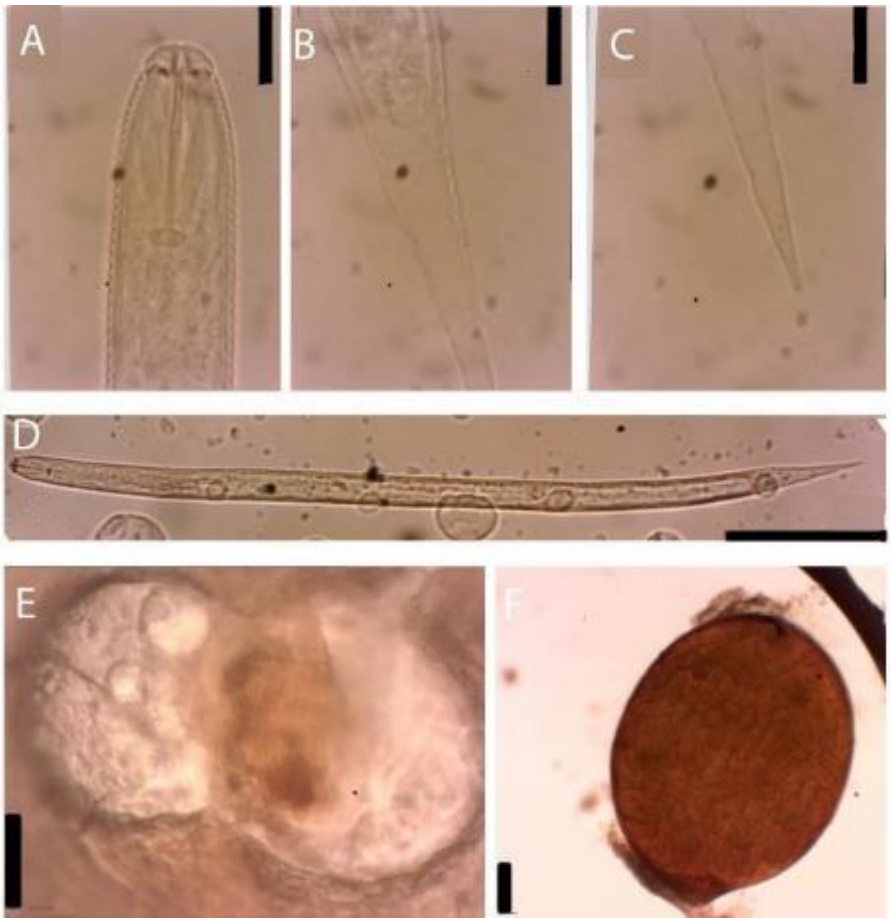
مشخصات ریخت‌شناسی *H.avenae*

سیست‌ها لیمویی شکل با قسمت انتهایی برآمده (cone top)، bullae تکامل‌یافته و قوی، پنجره خروجی لارو از نوع bifenestrate و شکاف ولوا تقریباً ۲۰ میکرومتر بود. سیست‌های جوان دارای پوشش ضخیم و سفید نیمه شفاف (sub-crystalline) بوده و رنگ سیست‌ها از سفید به قهوه‌ای تبدیل شدند. متوسط اندازه سیست ۰/۵ × ۰/۷۱ میلی‌متر می‌باشد. ماده بالغ، لیمویی شکل با گردن کشیده و سفید رنگ لایه نیمه شفاف (sub-crystalline) واضح که با افتادن آن، سیست قهوه‌ای‌رنگ ظاهر می‌شود. لارو سن دو کرمی شکل با دم همراه با هیالین، طول بدن لاروها بین ۵۸۰-۵۲۰ میکرومتر و عرض آن‌ها ۲۲/۵-۲۰ میکرومتر می‌باشد. استایلت قوی، قسمت مخروطی جلوی استایلت کمتر از نصف آن، حباب میانی مری گرد، مشخص و با یک دریچه بزرگ می‌باشد. دم ۴/۵-۳ برابر عرض بدن در ناحیه مخرج می‌باشد. طول هیالین برابر ۴۹-۴۰ میکرومتر و خطوط سطوح جانبی در نزدیکی میان دم ناپدید می‌شود. در نمونه-های مورد بررسی نماتد نر یافت نشد.

جدول ۱: مشخصات ریخت‌سنجی لارو سن دوم و سیست نماتد *H. avenae* جمع آوری شده از مزارع گندم شهرستان دزفول

Table 1. morphometric characters of the second-stage juvenile and cysts of *H. avenae* nematode collected from wheat fields in Dezful County

Character\Source	Present Study	
	J2	Cyst
N	4	4
L	554± 21(526-579)	587±119(510-762)
a	26.3± 2(23.5-28.3)	1.3±0.1(1.2-1.4)
c	8.1± 0.5(7.5-8.7)	-
c'	4.2± 03(3.9-4.6)	-
Stylet	26.9± 0.8(26-27.6)	-
Conus	10.2± 1(9-11.4)	-
Median bulb	74.6± 2.6(71.1-77.3)	-
Tail length	68.6± 5.5(62.9-74.5)	-
Body width	21.1± 0.9(20.5-22.5)	458±96(374-596)
Hyaline	44.3± 4.1(39.2-49.3)	-
Anal body width	16.4± 1.8(15.4-19.1)	-



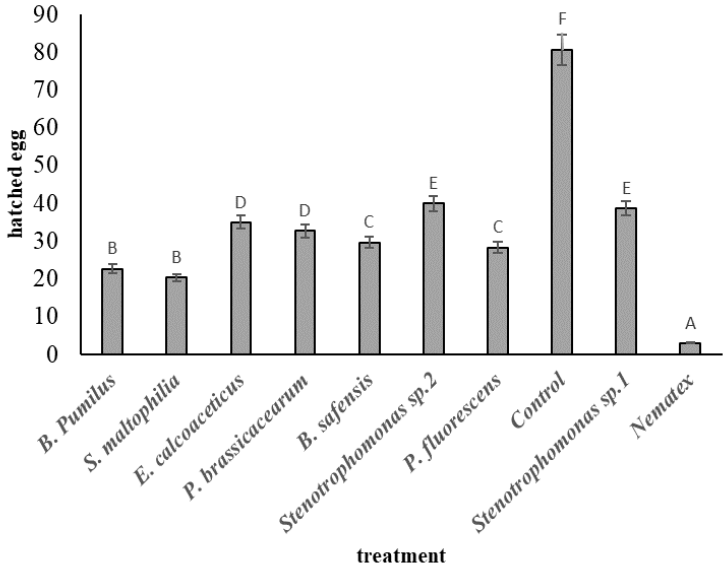
شکل ۱- لارو سن ۲ (A-D) و سیست (E-F). A: سر و استایلت، B-C: شکل دم و هیالین، D: شکل کلی بدن، E: پنجره خروجی لارو، F : شکل کلی سیست. مقیاس، E,A-C: ۱۰ میکرومتر، D,F: ۱۰۰ میکرومتر

Fig 1: Photomicrographs of *H. avenae*. Juveniles (A-D) and cyst (E-F). A: Head and stylet, B-C: tail and hyaline, D: Entire body, *E: Bifenestrate*, F: Cyst. (Scale bare: A-C, E: 10 micrometer, D, F: 100 micrometer).

اثر تیمارهای سویه‌های باکتریایی محرک رشد بر نماتد سیستی غلات

تعداد تخم تفریخ شده

گونه باکتریایی *B. pumilus* به ترتیب با میزان ۱±۲۰ عدد تخم تفریخ شده بیشترین تاثیر را در بازدارندگی از تفریخ تخم نشان داد. همچنین کمترین تاثیر در تیمارهای *Stenotrophomonas* sp. 1&2 با تعداد ۲ ±۴۰ و ۲ ±۳۸ عدد تخم تفریخ شده مشاهده شد (نمودار ۱).

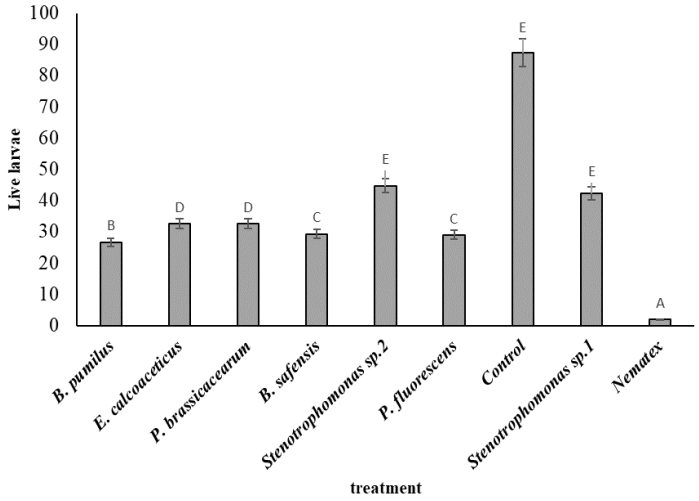


نمودار ۱- اثر ترشحات باکتریایی بر روی تعداد تخم تفریخ شده نماتد *H.avenae* درون تشتک پتری در شرایط آزمایشگاه (ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون LSDدر سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند.)

Chart 1. Number of eggs hatched in the presence of bacteria in the laboratory (The columns that have common letters are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level.)

میزان مرگ و میر لاروها

بیشترین میزان لارو زنده بعد از شاهد در تیمارهای *Stenotrophomonas sp.2* و *P. brassicacearum* با تعداد لارو زنده ۳± ۴۵و ۱±۳۳ عدد مشاهده شد. همچنین بیشترین تاثیر مثبت در میزان مرگ و میر و تعداد لارو زنده در تیمارهای Nematex و *B. pumilus* به ترتیب با ۰ و ۱± ۲۶ عدد لارو زنده مشاهده شد (نمودار ۲).



نمودار ۲- اثر استرین‌های باکتریایی بر میزان مرگ و میر لارو زنده درون تشتک پتری در شرایط آزمایشگاهی

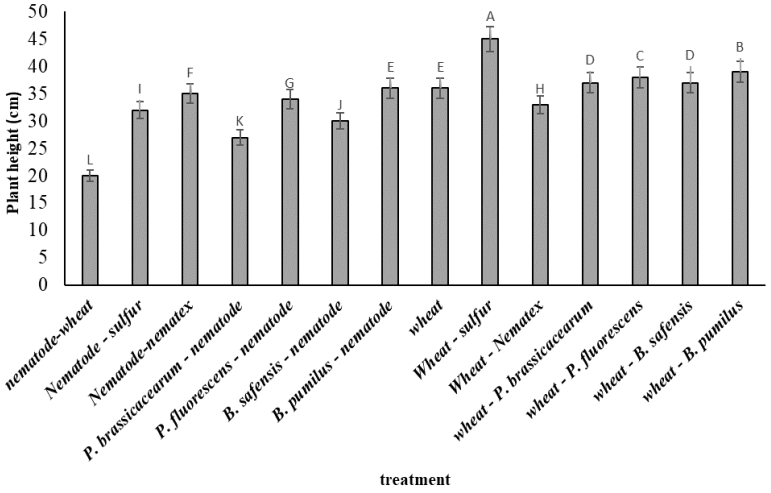
ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند.

Chart 2. The effect of bacteria on the number of live larvae in the presence of bacteria in the laborator
(The columns that have common letters are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level)

بررسی اثر استرین‌های باکتریایی در شرایط گلخانه

چهار باکتری منتخب با بالاترین عملکرد در آزمون‌های آزمایشگاهی به همراه تیمار گوگرد و نماتدکش در گلخانه جهت کنترل بیمارگر نماتد سیستی غلات مورد بررسی قرار گرفت. ۸۰ روز پس از مایه‌زنی، شاخص‌های عملکردی و شاخص‌های تولید مثل نماتد مورد بررسی قرار گرفت.

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که حداکثر ارتفاع بوته مربوط به تیمار گوگرد-گیاه سالم و نماتد-باکتری *B. pumilus* به ترتیب با میانگین ۲±۴۵ و ۱/۵±۳۹ سانتی‌متر و کمترین ارتفاع بوته مربوط به شاهد نماتد با میانگین ۱±۲۰ سانتی‌متر بود (نمودار ۳).



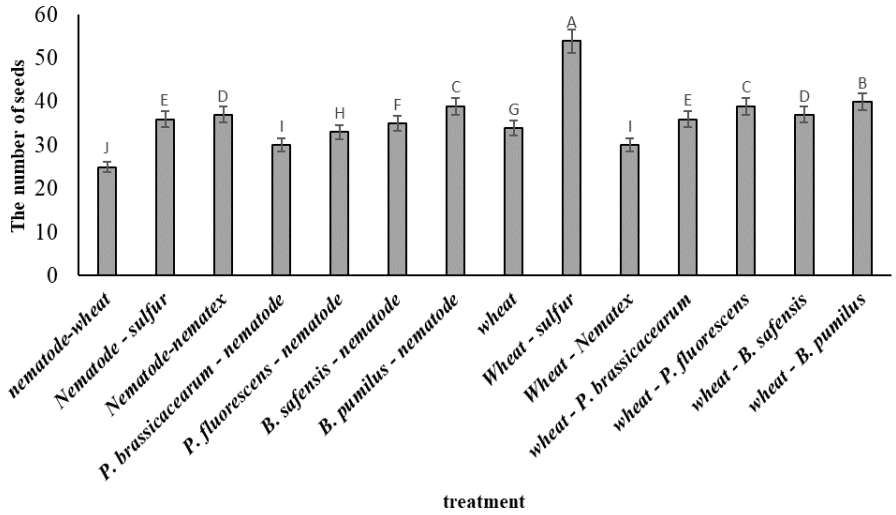
نمودار ۳- اثر تیمارهای مختلف بر میزان ارتفاع بوته در شرایط گلخانه (ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون LSDدر سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند)

Chart 3. The effect of different treatments on plant height under greenhouse conditions (The columns that have common letters are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level)

مقایسه میانگین داده‌ها در تیمار تعداد دانه در خوشه نشان داد که تیمار گوگرد-گیاه سالم بیشترین تعداد دانه با میانگین ۳±۵۳ و تیمار نماتد-گندم با میانگین ۱±۲۴ کمترین تعداد را از خود نشان داد. همچنین تیمارهای باکتریایی *B. pumilus* در حضور و عدم حضور نماتد بیشترین اثر را از خود نشان داد (نمودار ۴).

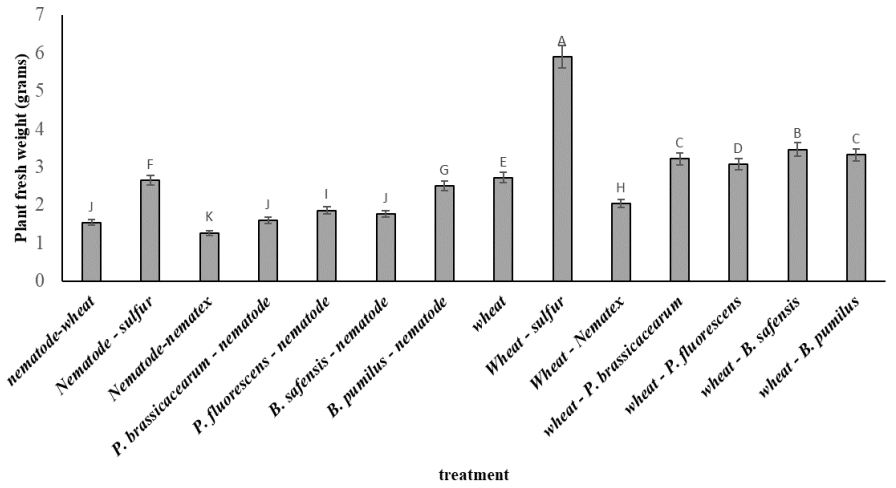
مقایسه میانگین داده‌ها در تیمارهای وزن تر و خشک بوته نشان داد که تیمارهای گوگرد-گیاه سالم، گونه‌های باکتریایی *B. safensis* و *B. pumilus* به ترتیب با میزان ۲±۵/۹، ۲±۳/۵/ و ۱±۳/۲ گرم بیشترین وزن تر بوته و تیمارهای گوگرد-گیاه سالم، باکتری *P. brassicacearum* و *B. pumilus* به ترتیب با میزان ۰/۲±۱/۸/، ۰/۲±۱/۵ و ۰/۲±۱/۵ گرم بیشترین وزن خشک را نشان داده است (نمودارهای ۵ و ۶).

مقایسه میانگین داده‌ها در تیمارهای وزن تر و خشک ریشه نشان داد که تیمارهای گوگرد-نماتد، گوگرد-گیاه سالم و باکتری *P. fluorescens* به ترتیب با میزان ۰/۱±۱/۵، ۰/۱±۱/۳/ و ۰/۱±۱/۲گرم بیشترین وزن تر ریشه و تیمارهای گوگرد-نماتد و گوگرد-گیاه سالم به ترتیب با میزان ۰/۱±۱/۲/ و ۰/۰۷±۰/۸۹ گرم بیشترین وزن خشک را نشان داده است (نمودارهای ۷ و ۸).



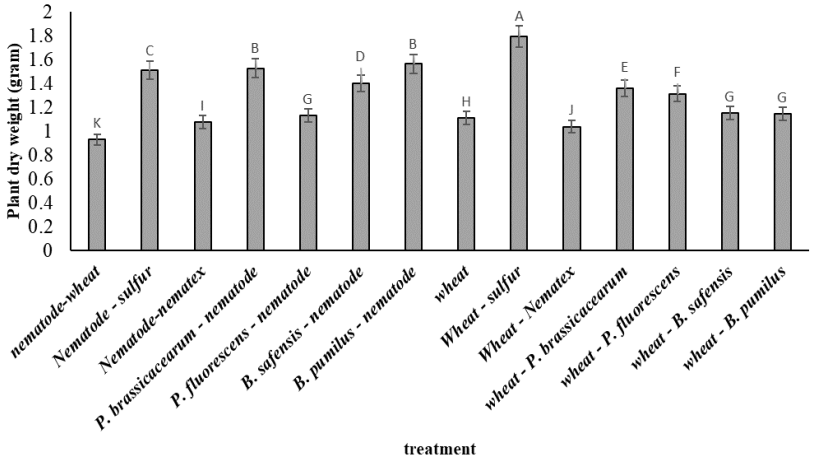
نمودار ۴- اثر تیمارهای مختلف بر تعداد دانه در خوشه در شرایط گلخانه (ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند)

Chart 4. The effect of different treatments on the number of seeds under greenhouse condition (The columns that have common letters are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level)



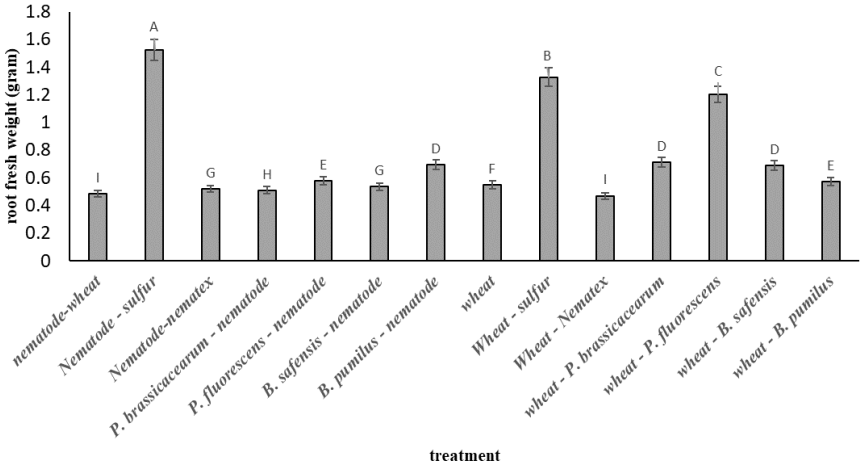
نمودار ۵- اثر تیمارهای مختلف بر میزان وزن تر بوته در شرایط گلخانه (ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند)

Chart 5. The effect of different treatments on plant fresh weight under greenhouse condition (The columns that have common letters are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level)



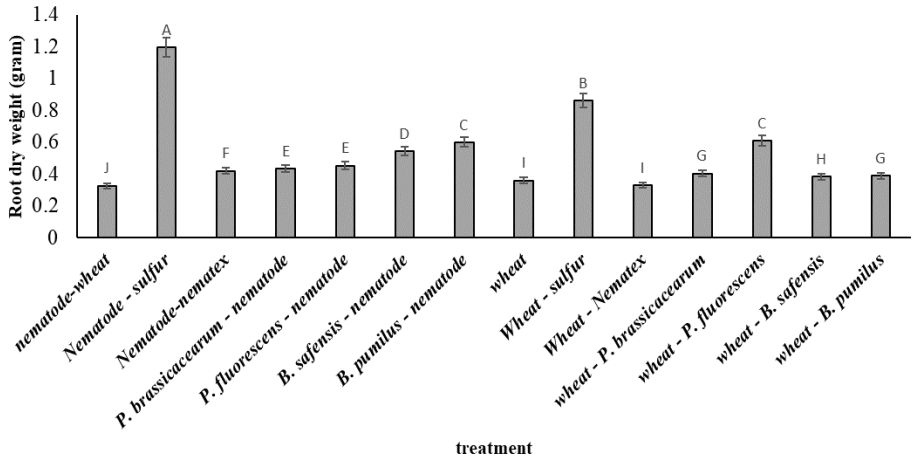
نمودار ۶- اثر تیمارهای مختلف بر میزان وزن خشک بوته در شرایط گلخانه (ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSDدر سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند)

Chart 6. Effect of different treatments on plant dry weight under greenhouse condition (The columns that have common letters are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level)



نمودار ۷- اثر تیمارهای مختلف بر میزان وزن تر ریشه در شرایط گلخانه (ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون LSDدر سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند)

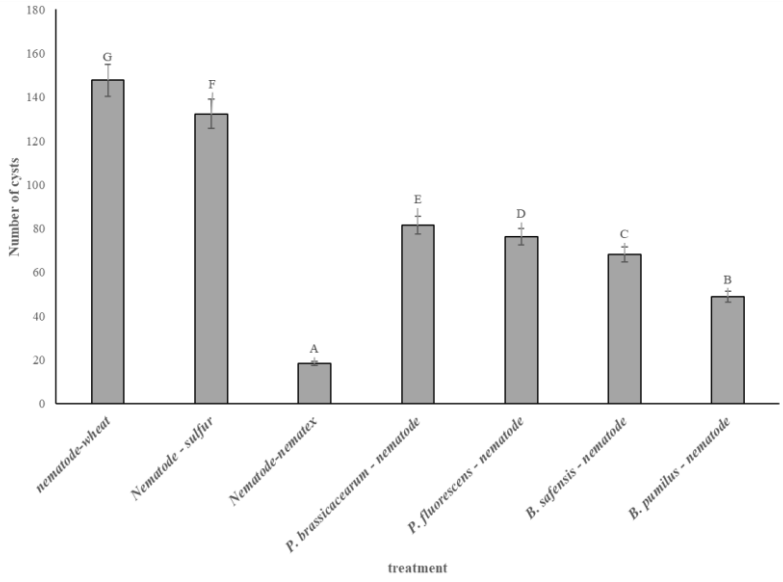
Chart 7. the effect of different treatments on root fresh weight under greenhouse condition
(The columns that have common letters are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level)



نمودار ۸- اثر تیمارهای مختلف بر میزان وزن خشک ریشه در شرایط گلخانه (ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSDدر سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند)

Chart 8. The effect of different treatments on root dry weight under greenhouse condition (The columns that have common letters are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level)

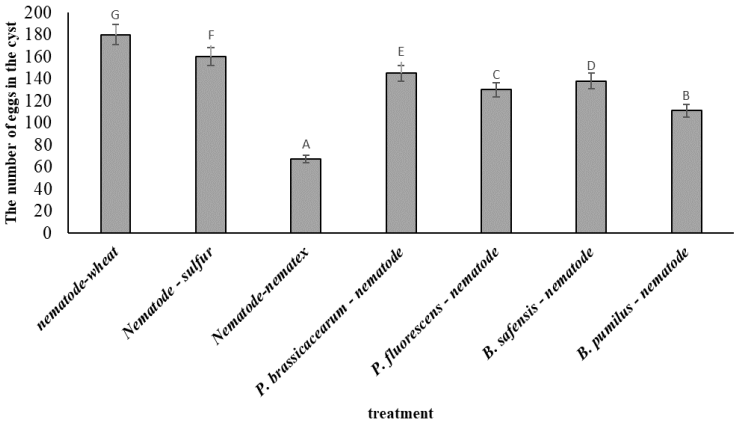
پس از خارج کردن بوته‌ها و بررسی ریشه‌ها در زیر بینوکولار تعداد سیست های موجود در هر ریشه شمارش و برای هر گلدان محاسبه گردید. بیشترین تعداد سیست در گلدان مربوط به تیمار نماتد-گوگرد با ۱۳۲±۵ عدد و کمترین میزان تعداد سیست در تیمار *B. pumilus* با تعداد ۴۶ ۲± عدد سیست می‌باشد(نمودار ۹).



نمودار ۹- اثر تیمارهای مختلف بر تعداد سیست در شرایط گلخانه (ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون LSDدر سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند)

Chart 9. the effect of different treatments on the number of cysts under greenhouse condition (The columns that have common letters are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level)

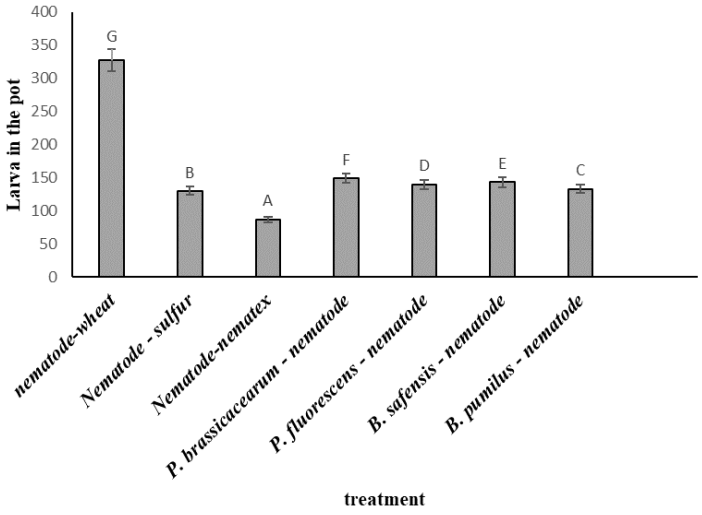
بیشترین میانگین تعداد تخم در سیست بعد از شاهد در ستون نماتد-گوگرد و *P. brassicacearum* با میانگین ۲±۱۶۰ و ۲± ۱۴۵ عدد تخم در سیست ثبت شده است و کمترین تعداد تخم در سیست در تیمارهای Nematex و *B. pumilus* با تعداد ۱±۶۷ و ۲±۱۱۱ عدد تخم در سیست مشاهده می‌شود (نمودار ۱۰).



نمودار ۱۰- اثر تیمارهای مختلف بر تعداد تخم در سیست در شرایط گلخانه (ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون LSDدر سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند)

Chart 10. the effect of different treatments on the number of eggs in the cyst under greenhouse condition (The columns that have common letters are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level)

بیشترین میزان لارو در گلدان بعد از شاهد آلوده با میزان ۵±۳۳۳ عدد، در تیمارهای *P. brassicacearum* و *B. safensis* با ۲± ۱۴۹ و ۲±۱۴۳ عدد لارو در گلدان دیده می‌شود و کمترین میزان لارو در تیمار Nematex با ۱± ۸۷ عدد شمارش شده است (نمودار ۱۱).



نمودار ۱۱- اثر تیمارهای مختلف بر تعداد لارو در گلدان (ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند)

Chart 11. the effect of different treatments on the number of larvae in the pot under greenhouse condition (The columns that have common letters are not significantly different from each other based on the LSD test at the 5% probability level)

بحث و نتیجه‌گیری

کنترل زیستی عوامل بیمارگر گیاهی یکی از امیدوارکننده‌ترین روش‌های مبارزه با آفات و بیماری‌های گیاهی هستند از جمله استفاده از ترکیبات گیاهی و مواد سازگار با محیط زیست (Nasiri *et al*. 2013; Azizi, 2023; Mirzaei Najafgholi *et al*. 2023) و استفاده از ارگانیسم‌های زنده مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها علیه پاتوژن‌های گیاهی. استفاده از برخی از باکتری‌های که محرک رشد برای گیاهان باشند می‌تواند در افزایش تولید محصول به تولیدکنندگان کمک کنند از طرفی اگر این باکتری‌ها اثر کنترلی بر بیمارگر گیاهی داشته باشند چشم انداز بسیار روشنی برای استفاده از این باکتری‌ها در محصولات مختلف زراعی و باغی به وجود می‌آید. در پژوهش حاضر نتایج قابل توجهی در کنترل نماتد سیستی غلات در آزمایشگاه و گلخانه توسط باکتری‌های به کار رفته بدست آمد و این نتایج با نتایج برخی از پژوهش‌ها همخوانی داشت از جمله تاثیر دو گونه از باکتری‌های جنس سودوموناس به کار رفته در گلخانه بر تعداد سیست نماتد سیستی غلات، در باکتری *P. fluorescens* میزان کاهش جمعیت سیست نسبت به شاهد ۴۹ درصد می‌باشد و در تیمار *P. brassicacearum* میزان کاهش تعداد سیست نسبت به شاهد ۴۵ درصد برآورد شده است. این نتایج با پژوهشی که توسط Shahid ahmed, 2017 بر روی تأثیر سویه‌های مختلف باکتری جنس *Pseudomons* برکاهش تعداد سیست در محیط گلخانه صورت گرفته است و کاهش ۵۷ تا ۷۵ درصدی را نشان می‌دهد همخوانی دارد. همچنین در این پژوهش اثر دو گونه از باکتری‌های جنس *Bacillus* بر میزان مرگ و میر لاروها و کاهش تعداد سیست مورد بررسی قرار گرفت، باکتری *B. pumilus* با کاهش دادن تعداد لاروهای زنده نسبت به شاهد به میزان ۷۰ درصد و کاهش تعداد سیست به میزان ۶۷ درصد و باکتری *B. safensis* با کاهش دادن تعداد لاروهای زنده نسبت به شاهد به میزان ۶۶ درصد و کاهش تعداد سیست به میزان ۵۴ درصد اثر کنترلی خوبی در برابر این نماتد از خود نشان دادند و با نتایج Ahmed *et al*. (2018: 2019) که بیان شده این باکتری باعث کاهش ۵۵ تا ۷۳ درصدی تعداد لاروها می‌باشد، و همچنین این نتایج با نتایج Ahmed *et al*. (2019) و Zhi hang *et al*. (2015) که بترتیب روی گونه باکتری *Bacillus cereude* B48 و *Bacillus cereus* isolate 09B18 تحقیق کرده بودند که باعث کاهش ۷۸ درصدی و ۷۵/۹ درصدی تعداد سیست‌ها بترتیب می‌باشند همخوانی دارد. همچنین گونه باکتری *Stenotrophomona maltophilia* توانسته ۶۹ درصد تعداد سیست‌ها را کاهش دهد و میزان کاهش تفریخ تخم و افزایش مرگ و میر لاروها نیز ۷۵ و ۷۳ درصد بوده است و به عوان عامل کنترلی برای نماتدهای سیستی معرفی می‌گردد. دو جنس باکتری سودوموناس و باسیلوس به دلیل تولید آهن، انحلال فسفات، تولید آنتی‌بیوتیک‌های مختلف و آنزیم‌های لایزکننده سلولی از گزینه‌های مناسب برای کنترل عوامل بیمارگر گیاهی می‌باشد که قادر به کنترل بیمارگرهای مختلف مانند قارچ *fusarium graminearum* می‌باشند (Hassanvand *et al*. 2023). نتایج این پژوهش نشان دهنده پتانسیل و قابلیت استفاده از این باکتری‌ها برای کاهش اثر پاتوژن بر میزبان و همچنین افزایش راندمان رشدی گیاه می‌باشد که می‌توان از این باکتری‌ها حتی درصورت سالم بودن گیاه و عدم حضور پاتوژن نیز در جهت افزایش رشد گیاه به عنوان کود زیستی استفاده کرد.

سپاسگزاری

نویسندگان از جناب آقای دکتر منوچهر حسین‌وند جهت جمع‌آوری نمونه نماتد همچنین شورای پژوهشی دانشگاه لرستان جهت فراهم کردن شرایط انجام پژوهش تشکر و قدردانی می‌کنند.

References

Agriculture statistics, 2022. Ministry of Jihad-e- Agriculture, Economic and planting assistance information and communication technology center. First volume, crop products, pp.15-16. (In Persian with English summary).

Ahmed, S., Yue, L., Liu, Q. & Jian, H. 2018. Bio-control potential of *Bacillus* isolates against cereal cyst nematode (*Heterodera avenae*), Pakistan Journal of Nematology, 36(2): 163-176.

Ahmed, S., Yue, L., Liu, Q. & Jian, H. 2019. *Bacillus cereus* a potential strain infested cereal cyst nematode (*Heterodera avenae*), Pakistan Journal of Nematology, 37(1): 53-61.

Dawabah, A.A., Al-Hazmi, A.S., Al-Rehiayani, S.M., Abdel-Mawgoo, A.L., Motawei, M.I., Al-Otayk, S., Sadder, M.T., Elgorban, A.M., Migdadi, H.M. & Moustafa, K.A. 2012. Morphological and molecular characterization of cereal cyst nematode (*Heterodera avenae*) populations from arid environments, Australian Journal of Crop Science, 6(6): 970-979.

De Grisse, A.T. 1969. Redescription ou modification dequelques techniques utilisees dans l'etude des nematodes phytoparasitaires, Rijks fakulteit Land wetenschappen Gent, 34: 351-369.

Jha, C.K. & Saraf, M. 2015. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a review, Journal of Agricultural Research and Development, 5: 108-119.

Faostat, F.A.O. Food and Agriculture Organization of the United Nations-Statistic – Statistical Yearbook 2022

Fidler, J.H. & Bevan, W.J. 1963. density of cereal root eelworm (*Heterodera avenae Woll*) populations and their damege to the oat crop, Nematologica, 9(3): 412-420.

Hasanvand, E., Darvishnia, M., Mirzaei-Najafgholi, H. & Pakbaz, S. 2023. Isolation and identification of plant growth-promoting bacteria from the rhizosphere of wheat and evaluation of their growth-promoting and biocontrol properties, Genetic Engineering and Biosafety Journal, 11(2): 230-242.

Mirzaei-Najafgholi, H., Hasanvand, E., Pakbaz, S. & Rouhani, N. 2023. Investigating Effective Factors in Improving Plant Growth by Native Phosphate-dissolving Bacteria Isolated from Wheat, Journal of Genetic Resources, 9(2): 193-204.

Nicol, J. & Rivoal, M. 2008. Global knowledge and its application for the integrated control and management of nematodes on wheat In: Integrated management and biocontrol of vegetable and grain crops nematodes, *Springer Academic Publishing*, Dordrecht, The Netherlands, 243-287.

Nicol, J.M. 2002. Important nematode pests of cereals, In: Bread wheat: Improvement and production", *FAO Plant Production and Protection Series*, Rome, Italy, 345-366.

Rivoal, R. & Cook, R.1993. Nematode pests of cereals. In: Plant parasitic nematodes in temperate agriculture, *CAB International*, Wallingford, UK, 259-303.

Shahid, A. 2017. Seed bacterization with pseudomonas isolates against wheat cyst nematode (*Heterodera avenae*)", Bangladesh Journal of Botany, 46(3): 995-1000.

Shewry, P.R. 2009. Wheat, Journal of Experimental Botany, 60(6): 1537–53.

Webster, J.M. 1972. Economic Nematology, Acadmic Press, p. 563.

Weller, D.M. & Cook, R.J. 1983. Suppression of take-all of wheat by seed treatments with fluorescent pseudomonads, Phytopathology, 73: 463-469.

Whitehead, A. & Hemming, J. 1965. A comparison of some quantitative methods of extracting small vermiform nematodes from soil, Annals of applied Biology, 55: 25-38.

Zafar Handoo, A. 2002. A Key and Compendium to Species of the *Heterodera avenae* Group (Nematoda: Heteroderidae), Journal of Nematology, 34(3): 250–262.

Zhang, J., Yonghui, L., Hongxia, Y., Bingjian, S. & Honglian, L. 2015. Biological control of the cereal cyst nematode (*Heterodera filipjevi*) by *Achromobacter xylosoxidans* isolate 09X01 and *Bacillus cereus* isolate09B18, Department of Plant Pathology, 7: 1–19.

The effect of plant growth-promoting bacteria on Cereal cyst nematode (*Heterodera avenae*) under laboratory and greenhouse conditions

Mohammad Bazgir[1], Hossein Mirzaei Najafgholi[2], Kourosh Azizi[3], Neda Rouhani[4], Mohammadreza Alymanesh[5]

1. M.Sc student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran.
2, 3. Assistant Professor, Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran.
4. PhD graduated, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
5. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ilam University, Ilam, Iran.
Corresponding author: Hossein Mirzaei Najafgholi, email: mirzaei.h@lu.ac.ir

Received: May., 02, 2024 11(1) 83–96 Accepted: Jun, 16, 2024

Abstract

One of the damaging agents for wheat is the cereal cyst nematode (*Heterodera avenae*). Plant Growth Promoting Bacteria (PGPR) are a group of bacteria that have beneficial properties for plant growth, including iron chelation, siderophore production, phosphate dissolution, nitrogen fixation, as well as the production of protease and chitinase enzymes. These bacteria can also be used as biological control agents. In this study, wheat roots showing suspicious symptoms of cereal cyst nematode were collected from the Dezful county in Khuzestan province during 2022-2023. After initial investigations, nematode identification and purification was done. According to the morphometric and morphological characteristics of the larvae and cysts, especially its cone top, *H. avenae* was diagnosed. the effect of seven native growth-stimulating bacterial strains on egg hatching rate and mortality of cereal cyst nematode larvae in the Petri dish was investigated in the laboratory. The effect of four selected bacterial strains with sulfur treatment and Nematex EC nematicide was investigated in the greenhouse against grain cyst nematode. The results showed that in laboratory conditions, the bacterial strains were able to reduce the egg hatching rate by 62% on average. *Bacillus pumilus* bacteria caused the greatest decrease in egg hatching by 73%. The percentage of mortality of larvae in the laboratory test was also shown to be 63% on average, and the treatment of *B. pumilus* bacteria showed the highest percentage of mortality with 70%. The results of the greenhouse investigations showed that the treatments involving sulfur-healthy plants, sulfur-nematode, and the *B. pumilus* and *P. fluorescens* bacteria were most effective in promoting healthy plant growth and controlling nematode infestation. These treatments resulted in significant improvements in plant height, as well as fresh and dry plant and root weights. Additionally, the greatest reduction in the number of cysts was observed in the *B. pumilus* treatment, with an average of 49 ± 1 cysts. When examining the number of eggs within the cysts, the most substantial decrease was observed in the Nematex EC and *B. pumilus* bacteria treatments, with 67 ± 1 and 111 ± 2 eggs, respectively. Furthermore, in the assessment of the number of live larvae in the pot, the greatest decrease in the number of larvae was observed in the Nematex treatment, with 87 ± 1.

Keywords: Nematode, Biological Control, Wheat, Bacteria