

ردیابی آنتی‌بیوتیک فنازین-۱-کربوکسیلیک اسید  
جداسازی در سودوموناس‌های فلورسنت  
شده از ریزوسفر گندم و تاثیر آن در کنترل بیولوژیکی  
بیماری پاخوره گندم

نویسندگان :

سعید خیرگرد زاده، دانشجو دانشگاه فرهنگیان

هادی نادری ، دانشجو دانشگاه فرهنگیان

چکیده

بیماری پاخوره گندم با عامل قارچی *Gaeumannomyces var. tritici graminis* یکی از مهم‌ترین بیماری‌های گندم در ایران به شمار می‌رود. به منظور کنترل بیولوژیکی این بیماری، ۱۳۰ جدایه سودوموناس فلورسنت از ریزوسفر گندم در نواحی مختلف استان خراسان جداسازی شد. برای انتخاب جدایه‌های سودوموناس فلورسنت با توانایی بازدارندگی از رشد قارچ، آزمون کشت متقابل باکتری‌ها با قارچ *Ggt* در محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار و کینگ ب انجام شد. از این میان، ۲۱ جدایه با قابلیت بازدارندگی بین ۲۵/۱۱-۲۵/۵۱ درصد به عنوان جدایه‌های برتر از نظر ممانعت از رشد قارچ *Ggt* انتخاب شدند. برای ردیابی ژن بیوسنتز آنتی‌بیوتیک فنازین-۱-کربوکسیلیک اسید (PCA)، روش PCR با استفاده از پرایمرهای PCA2a و PCA3b انجام شد. نتایج نشان داد ۱۲ جدایه از ۲۱ جدایه انتخاب شده حاوی ژن بیوسنتز آنتی‌بیوتیک PCA بودند. جهت بررسی تولید این آنتی‌بیوتیک از روش کیفی تولید رسوب سبز تیره یا کریستالی در محیط کشت استفاده شد. نتایج نشان‌دهنده توانایی تولید این آنتی‌بیوتیک در ۶ جدایه از ۱۲ جدایه حاوی ژن بیوسنتز آنتی‌بیوتیک بود. در آزمایش‌های گلخانه‌ای نیز جدایه‌های تولیدکننده آنتی‌بیوتیک فنازین-۱-کربوکسیلیک اسید، نسبت به سایرین از توانایی بیشتری در کنترل بیماری پاخوره گندم برخوردار بودند و شدت بیماری را ۷۷-۸۰ درصد کاهش دادند. با کاربرد این جدایه‌ها همچنین افزایش قابل ملاحظه‌ای در وزن تر ریشه و بخش‌های هوایی گیاهان مشاهده شد. نتایج این تحقیق پیشنهاد می‌کند که احتمالاً آنتی‌بیوتیک فنازین-۱-کربوکسیلیک اسید تولیدشده توسط جدایه‌های سودوموناس فلورسنت، در کاهش بیماری پاخوره در گندم نقش دارد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌بیوتیک فنازین-۱-کربوکسیلیک اسید، پاخوره، سودوموناس فلورسنت، کنترل بیولوژیکی

مقدمه:

پاخوره یا Take-all از بیماری‌های مهم غلات به ویژه گندم به شمار می‌رود. این بیماری عموماً به گندم‌های زمستانه حمله می‌کند و نقش زیادی در کاهش محصول دارد (۳۸). بررسی‌های فراوانی مبنی بر کاربرد باکتری‌های مفید در کاهش شدت بیماری پاخوره در گندم انجام شده است. باکتری‌های تحریک‌کننده رشد گیاه PGPR به گروهی از باکتری‌ها اطلاق می‌شود که خود را با ریشه‌های گیاهان بر اساس ترشحات آن‌ها آداپت کرده و به این ترتیب از سایر باکتری‌ها که نمی‌توانند کلینزاسیون موثری را بر روی ریشه داشته باشند، جدا می‌گردند. این باکتری‌ها توانایی خنثی کردن اثرات زیان‌آور بیمارگرهای گیاهی را به دو طریق دارا هستند. در یک روش باکتری با تولید آنتی‌بیوتیک، ترشح سیدروفور تولید سیانید هیدروژن، ترشح آنزیم‌های برون‌سلولی مانند کیتیناز، بتا یک و سه گلوکاناز، پروتئازو لیپاز فعالیت عامل بیماریزا را کاهش و متوقف می‌سازد. در روش دیگر باکتری سبب فعال شدن مکانیسم مقاومت سیستمیک القا می‌گردد. تولید آنتی‌بیوتیک توسط سودوموناس‌های فلورسنت، یکی از مکانیسم‌های مهم در کنترل بیماری‌ها توسط این باکتری‌ها به شمار می‌رود. از جمله مهم‌ترین این ترکیبات می‌توان به آنتی‌بیوتیک‌های ۲ و ۴ دیاستیل فلوروگلوکوسینول، فنازین، پایولوتورین، اگروسین ۸۴ هریکولین، اومایسین، پیرولیتیرین اشاره کرد. آنتی‌بیوتیک‌های تولیدشده توسط سودوموناس‌ها، روی فعالیت طیف وسیعی از پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها اثر بازدارنده دارند. کلینزاسیون موثر ریشه توسط باکتری‌ها و تولید آنتی‌بیوتیک‌ها در منطقه ریزوسفر می‌تواند عامل مهمی در کنترل بیماری‌های گیاهی به خصوص بیماری‌های خاکزاد باشد.

جداسازی سودوموناس‌های فلورسنت از ریزوسفر گندم به منظور جداسازی باکتری‌های سودوموناس فلورسنت تعداد ۶۰ نمونه خاک (شامل ریشه و خاک ناحیه ریزوسفر (از

ارزیابی قرار گرفت. نتایج این آزمون بر روی محیط کشت کینگ به آگار نشان دهنده هاله بازدارندگی بیشتر در مقابل قارچ Ggt بوده است.

ردیابی ژن (phzC, phzD) بیوسنتز آنتی‌بیوتیک فنازین-۱- کربوکسیلیک اسید توسط واکنش زنجیرهای پلیمراز

به منظور استخراج DNA ژنومی جدایه‌های باکتریایی، از روش ستیل‌تری‌متیل‌آمونوم بروماید (CTAB) استفاده شد. چند لوب از کشت ۲۴ ساعته باکتری بر روی محیط کینگ ب به میکروتیوپ‌های ۱/۱ cc حاوی ۱ cc آب مقطر استریل افزوده شد. پس از ۳۰ ثانیه ورتکس، نمونه‌ها بمدت ۵ دقیقه در ۶۰۰۰ rpm سانتریفوژ گردید و محلول رویی دور ریخته شد. پس از افزودن ۳۰ μl از محلول SDS 20% و ۵۶۷ μl بافر استخراج به هر نمونه، ۳۰ ثانیه به آرامی ورتکس انجام شد و به مدت ۵-۱۰ دقیقه نمونه‌ها در دست تکان داده شد و سپس ۲۰ دقیقه در حمام بن ماری ۶۵°C قرار گرفت، هر پنج دقیقه میکروتیوپ‌ها به آرامی تکان داده شد. به هر نمونه ۹۰ μl از محلول NaCl 5M و ۸۰ μl از محلول CTAB افزوده و سپس به آرامی تکان داده شد و ۲۰ دقیقه در حمام بن ماری در ۶۵°C قرار گرفت. سپس ۷۶۷ μl محلول کلروفرم-ایزوامیل به هر نمونه افزوده شد. سپس به آرامی نمونه‌ها را تکان داده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۳۴۰۰ rpm سانتریفوژ شد. در این مرحله سه فاز کاملاً مجزا تشکیل می‌گردد. فاز رویی (۱۳۵۰ μl) به میکروتیوپ استریل جدیدی منتقل شد. به هر نمونه به میزان ۸/۰ حجم محلول برداشته شده قبلی، ایزوپروپانول سرد افزوده شد و سپس به آرامی به صورت دورانی تکان داده شد تا زمانی که کلاف DNA به صورت ابر سفید مشاهده گردد و پس از ۳۰-۴۵ دقیقه نگهداری در فریزر به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۳۴۰۰ rpm سانتریفوژ شد. محلول رویی حذف شده و رسوب DNA را با الکل ۷۰ درصد شستشو داده و در دمای اتاق در زیر هود رسوب خشک شد. رسوب DNA در ۳۰ μl آب مقطر استریل حل شد و در ۲۰°C- نگهداری گردید. واکنش زنجیرهای پلیمراز با استفاده از دو آغازگر ۲۰ نوکلئوتیدی PCA2a و PCA3b (ساخت شرکت تکاپوزیست) انجام شد. آغازگرهای PCA2a و PCA3b بر اساس توالی ژن‌های بیوسنتز آنتی‌بیوتیک PCA در استرین P. fluorescens 2-79 و به ترتیب بر اساس توالی ژن‌های phzC و phzD طراحی شده بودند.

مناطق مختلف استان‌های خراسان شمالی، رضوی و جنوبی جمع‌آوری گردید. سپس یک گرم از خاک ریزوسفری از نمونه‌ها جدا و آنگاه با استفاده از آب پیتون استریل (پیتون 2 گرم، آب مقطر ۱۰۰ میلی‌لیتر) سری رقت تهیه شد. رقت‌های مختلف روی محیط کشت کینگ ب آگار (KB) پخش شدند و به منظور رشد باکتری‌ها پلیت‌ها در دمای ۲۸°C در انکوباتور قرار گرفتند. پس از گذشت ۴۸-۷۲ ساعت، پرگنه‌های رشد یافته مجدداً جهت خالص سازی روی محیط کینگ ب آگار رشد داده شدند. در مرحله بعد پرگنه‌های خالص شده باکتری‌ها با استفاده از لامپ UV با طول موج ۳۶۵ نانومتر از نظر تولید رنگدانه فلوروسنتس مورد بررسی قرار گرفتند. باکتری‌ها به منظور آزمایشات بعدی درون سولفات منیزیم (0/1 مولار) نگهداری شدند.

شناسایی سودوموناس‌های فلوروسنت و انتخاب جدایه‌های برتر جهت شناسایی باکتری‌ها، انجام تست‌های شناسایی بر اساس روش شادو همکاران صورت گرفت. واکنش‌های کاتالاز، اکسیداز، رشد بی‌هوازی، گرم، تولید آرژنین دهیدرولاز، هیدرولیز نشاسته، هیدرولیز ژلاتین، تولید لوان از سوکروز روی محیط آگار مغذی حاوی سوکروز پنج درصد، احیای نیترات، تولید رنگدانه فلوروسنت روی محیط کینگ ب، رشد در ماه‌های ۴ و ۴۱ درجه سانتی‌گراد و مصرف قندهای سوربیتول و ال‌آر اینوز در جدایه‌های انتخاب شده صورت پذیرفت.

بازدارندگی از رشد قارچ *Gaeumannomyces tritici* var. *graminis* توسط سودوموناس‌های فلوروسنت در تشک پتری به‌م‌نظور بررسی اثر آنتاگونیستی باکتری‌ها از دو محیط کشت PDA و KB استفاده شد. در این بررسی از ۲۱ جدایه باکتری و یک جدایه قارچ استفاده شد. جدایه‌های باکتری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۸°C رشد داده شدند. سپس با استفاده از لوپ استریل باکتری‌ها برداشته و در فاصله ۵/۰ سانتی‌متری لبه تشک پتری به صورت نقطه‌ای کشت داده شد و به صورت هم‌زمان قطعه‌ای از قارچ Ggt به قطر یک سانتی‌متر که به مدت چهار روز درون محیط کشت سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA) رشد داده شده بود، در وسط پتری قرار داده شد. برای هر جدایه باکتری در این آزمون سه تکرار در نظر گرفته شد. پس از انکوباسیون در دمای ۲۵°C و گذشت مدت زمان چهار روز، هنگامی که هیف‌های قارچ کل پتری شاهد را پر کردند، بازدارندگی از رشد قارچ در تشک‌های پتری حاوی جدایه‌های باکتری مورد

واکنش PCR در  $25\mu\text{l}$  (چهار میکرولیتر DNA ، یک میکرولیتر از هر پرایمر و مابقی آب) بر اساس روش رایمیکرز و همکاران (۱۹۹۷) صورت گرفت. برای صحت انجام آزمایش و کنترل آلودگی، در یک واکنش به جای اضافه کردن DNA ژنومی از آب مقطر سترون (به عنوان شاهد منفی) و برای شاهد مثبت نیز از استرین P. fluorescens 2-79 دارای توانایی تولید PCA استفاده شد. جدایه P4 نیز به عنوان جدایه دارنده ژن بیوسنتز آنتی بیوتیک فنازین-۱-کربوکسیلیک اسید از کلکسیون باکتری‌های دانشگاه تهران انتخاب گردید. پس از انجام واکنش در دستگاه ترموسایکلر مدل (Biometra, Germany)، قطعات تکثیر شده روی ژل آگارز ۵/۱ درصد به مدت یک و نیم ساعت در ولتاژ ۸۵ ولت از یکدیگر جدا شدند. پس از انجام الکتروفورز، ژل زیر نور ماوراءبنفش مورد ارزیابی قرار گرفت.

ارزیابی بیابان ژن‌های بیوسنتز فنازین-۱-کربوکسیلیک اسید در جدایه‌ها یا انتخاب شده جدایه‌های باکتریایی مورد نظر به همراه استرین P. fluorescens CHA0 به عنوان شاهد منفی بر روی محیط تریپتیک سوی آگار TSA کشت داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور نگهداری شدند. در مرحله بعد باکتری‌های رشد یافته روی محیط PDA مخطط شدند. پس از چهار روز نگهداری در دمای  $28^{\circ}\text{C}$ ، تولید رسوب سبز تیره یا رسوبات کریستالی در مرکز کلنی باکتری که بیانگر تولید آنتی بیوتیک فنازین-۱-کربوکسیلیک اسید است مورد ارزیابی قرار گرفت. این آزمایش در سه تکرار برای هر جدایه باکتری انجام گردیده شد. بدین منظور از یک جدایه قارچ (T1 که از نواحی آلوده به بیماری پاخوره در استان مرکزی جداسازی شده بود) و ۲۱ جدایه باکتری ۱۹ جدایه باکتریایی جداسازی شده از ریزوسفر گندم از استان خراسان، جدایه P. fluorescens 2-79 و جدایه P4 از کلکسیون آزمایشگاه بیوکنترل دانشگاه تهران) استفاده شد. برای تهیه زامایه قارچ از محیط کشت ارزن همراه با ماسه به نسبت ۱:۱ استفاده شد. قارچ Ggt به مدت چهار روز روی محیط کشت PDA ضعیف شده رشد داده شد و به میزان ۱۰ قطعه هشت میلی متری درون محیط کشت ارزن و ماسه ریخته شد. سپس محیط‌ها در دمای  $22-25^{\circ}\text{C}$  به مدت چهار هفته نگهداری شد. این زامایه به نسبت پنج درصد با خاک سیلت لوم استریل شده گلدان‌های ۸۰۰ گرمی مخلوط گردید. برای آغشته سازی بذور با باکتری، ابتدا broth yeast extract Nutrient agar محیط کشت در باکتری‌ها کشت داده شده و به مدت ۴۸

ساعت در دمای  $27^{\circ}\text{C}$  در انکوباتور قرار داده شدند. باکتری‌های رشد یافته با پنج میلی لیتر آب مقطر استریل از روی محیط کشت شسته شدند و دو میلی لیتر از سوسپانسیون باکتری‌ها روی محیط King B کشت داده شد. از محیط جدید سوسپانسیون دیگری تهیه شد و به آن به میزان ۵/۰ درصد کربوکسی متیل سلولز اضافه گردید. این سوسپانسیون دارای باکتری بود که بر اساس میزان جذب در طول موج ۵۴۶ نانومتر که تقریباً برابر ۱/۰ می باشد تعیین می گردد. بذرها به مدت ۴۵ دقیقه در سوسپانسیون باکتری حاوی کربوکسی متیل سلولز قرار داده شدند. سپس هفت عدد بذور در هر گلدان بین دو لایه ماسه قرار داده شد. تیمار شاهد سالم بدون افزودن قارچ و شاهد آلوده با افزودن قارچ در نظر گرفته شدند. گلدان‌ها به مدت چهار هفته در شرایط گلخانه در تیرماه در دمای  $20-28^{\circ}\text{C}$  قرار داده شدند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۲۳ تیمار و سه تکرار انجام شد. پس از زمان مذکور گیاهچه‌ها از گلدان‌ها خارج شده و با آب جاری شستشو داده شدند و بر اساس میزان آلودگی بین ۵۰- درجه بندی شدند. این شاخص سنجش آلودگی به صورت درجه صفر به مفهوم ریشه‌ها و طوقه‌ها بدون لکه‌های نکروزه، یک به مفهوم ریشه دارای یک یا چند لکه نکروزه و طوقه‌ها فاقد هرگونه علائم، دو به مفهوم ریشه‌ها دارای لکه‌های ممتد نکروزه (نکروز بیشتر از ۲۵ و کمتر از ۵۰ درصد)، سه به مفهوم نکروز بیشتر از ۵۰ درصد ریشه‌ها و کمتر از ۷۵ درصد و ظهور سیاه‌شدگی طوقه، چهار به مفهوم ریشه‌ها تقریباً سیاه‌رنگ با توسعه ۷۵ درصد سیاه‌شدگی طوقه و پنج به مفهوم ریشه‌ها و طوقه کاملاً سیاه‌رنگ و سبز خشک شدن گیاه می باشد. پس از حذف رطوبت سطحی گیاهان، وزن تر ریشه و اندام‌های هوایی و وزن کل گیاه نیز ارزیابی گردید.

### نتیجه گیری:

نقش باکتری‌های کلنیزه کننده ریشه در کنترل بیمارگرهای گیاهی بسیار حائز اهمیت است (۱۱). مکانیسم‌های مختلفی برای کنترل بیمارگرهای گیاهی وجود دارد که از جمله مهم‌ترین‌ها آن‌ها می‌توان به تولید سیدروفور، سیانید هیدروژن و آنتی بیوتیک‌ها اشاره نمود. همان‌گونه که ذکر شد سودوموناس‌های فلورسنت به دو روش مستقیم و غیر مستقیم

سبب جلوگیری از فعالیت بیمارگرها می‌گردد. تولید آنتی‌بیوتیک‌ها با تاثیر بر روی بیمارگر و مختل ساختن اعمال حیاتی بیمارگرها از جمله مکانیزم‌های مهم در کنترل بیولوژیک محسوب می‌گردند. تولید آنتی‌بیوتیک فنازین توسط سودوموناس‌های فلورسنت از جمله مکانیسم‌های موثر بر روی کاهش فعالیت بیمارگرها به خصوص قارچ Ggt می‌باشد که به عنوان میزبان حساس به آنتی‌بیوتیک‌ها شناسایی شده است. در مطالعات بسیاری، از سودوموناس‌های فلورسنت که دارای توانایی تولید آنتی‌بیوتیک هستند در کنترل بیماری پاخوره‌گندم استفاده شده است. در پژوهش فوق، در آزمون کشت متقابل، مقایسه میانگین هاله بازدارندگی نشان داد که تمام ۱۲ جدایه برتر انتخاب شده که دارای ژن بیوستنز آنتی‌بیوتیک فنازین-۱-کربوکسیلیک‌اسید بودند، باعث کاهش رشد میسلوم قارچ Ggt در شرایط آزمایشگاه شدند. جدایه F4 علاوه بر اینکه در شرایط آزمایشگاه دارای توانایی بازدارندگی بالایی از رشد قارچ Ggt بود، در شرایط گلخانه نیز موجب کنترل موثر بیماری پاخوره گردید. بر اساس نتایج این پژوهش، از میان ۱۲ جدایه برتر، در شش جدایه در روش کیفی، تولید آنتی‌بیوتیک فنازین-۱-کربوکسیلیک‌اسید به اثبات رسید. به طور کلی می‌توان این طور اثبات کرد که وجود ژن به تنهایی نشان‌دهنده بیان و یا به عبارتی تولید محصول ژن نمی‌باشد (۱۰). ژن بیوستنز آنتی‌بیوتیک فنازین-۱-کربوکسیلیک‌اسید در ۱۲ جدایه از ۲۱ جدایه باکتری استفاده شده در این پژوهش یعنی جدایه‌های F141, F4, F3, F2, F1, P4 و ۲-۷۹, CHN4, CHN5, F115, F70, F30, F141 و ۲-۷۹, P4, F4, F3, F1 جدایه‌های یعنی جدایه شش که در روش کیفی قادر به تولید رسوب تیره رنگ بودند. این نتایج نشان‌دهنده تولید قطعی آنتی‌بیوتیک فنازین-۱-کربوکسیلیک‌اسید در این شش جدایه می‌باشد. در پنج جدایه دیگر یعنی جدایه‌های CHN4, F115, F70, F30 و CHN5 هرچند در روش کیفی تولید آنتی‌بیوتیک فنازین-۱-کربوکسیلیک‌اسید هیچ‌گونه رسوبی دیده نشد ولی این جدایه‌ها در شرایط گلخانه خوب عمل کردند. بر طبق این نتایج احتمال می‌رود که در این پنج جدایه تولید آنتی‌بیوتیک فنازین-۱-کربوکسیلیک‌اسید صورت گرفته باشد ولی تولید آن به میزانی نبوده است که رسوب تیره در محیط ایجاد کند. چون شرایط محیط کشت نیز در تولید آنتی‌بیوتیک نقش دارند (۱۲). از طرف دیگر احتمال تولید مشتقات

آنتی‌بیوتیک PCA در این پنج‌جدایه نیز وجود دارد زیرا PCA به عنوان ماده حد واسط در سنتز سایر مشتقات فنازین در سودوموناس‌ها تولید می‌شود به عنوان مثال وارد شدن ژن phzM سبب سنتز پایوسیانین از فنازین-۱-کربوکسیلیک‌اسید می‌شود که از مشتقات فنازین محسوب می‌گردد. همچنین ژن phzO سبب تولید ۲-هیدروکسی فنازین، ژن phzS سبب تولید ۱-هیدروکسی فنازین و ژن phzS سبب تولید فنازین ۱-کربوکسامید می‌گردد (۱۰). از آنجایی که سایر مشتقات فنازین نیز در کنترل بیمارگرهای گیاهی نقش عمده‌ای دارند، لذا کنترل خوب این‌جدایه‌ها با احتمال تولید سایر مشتقات فنازین نیز ملموس می‌باشد. در جدایه F2 ژن بیوستنز آنتی‌بیوتیک فنازین-۱-کربوکسیلیک‌اسید ردیابی شد ولی در روش کیفی تشکیل رسوب به وسیله آن مشاهده نگردید. این جدایه در کنترل بیماری پاخوره در شرایط گلخانه نیز تاثیر خوبی نداشته است. لذا از آنجایی که مدیریت بخش‌های مختلف خاک برای اجرای صحیح فعالیت عامل آنتاگونیست نقش موثری دارد می‌توان چنین بیان کرد که ژن در این جدایه در شرایط گلخانه ای بیان نشده است و یا ممکن است باکتری در خاک از بین رفته باشد و یا آنتی‌بیوتیک تولید شده باشد ولی جذب کلونیدهای خاک شده باشد، زیرا کنترل بیولوژیک عوامل آنتاگونیست به بسیاری از فاکتورهای زنده و غیر زنده در خاک بستگی دارند. هیدینک و همکاران در بررسی‌های خود مشاهده کردند که تولید ترکیبات آنتی‌بیوتیک در کاهش بیماری پاخوره بسیار موثر می‌باشد ولی ممانعت از بیماری در مدت زمان طولانی بستگی به فاکتورهای محیطی دارد. فاکتورهایی نظیر دما، رطوبت، ترسحات ریشه در فعال شدن میکروارگانیسم و تشکیل اجتماعات در اطراف ریشه و تولید متابولیت‌ها نقش دارند. از طرف دیگر کلنیزه کردن موثر ریشه توسط باکتری نیز بسیار حائز اهمیت است. این احتمال وجود دارد که جدایه F2 کلنیزه کننده قوی ریشه نبوده و نتوانسته است به خوبی ریشه گیاهچه‌های گندم را در برابر قارچ Ggt حفاظت کند. به طور کلی نتایج نشان داد شش جدایه ۲-P4, F4, F1, F141, F79 و F3 کنترل بالایی را در برابر قارچ Ggt داشته‌اند. در این جدایه‌ها به ترتیب شدت بیماری ۲۳، ۲۳، ۲۱، ۲۰، ۲۰ و ۲۰ درصد و در جدایه‌های F30, F70, CHN4, CHN5 و F115 شدت بیماری به ترتیب ۳۶ و ۳۵ و ۳۰ و ۲۶ و ۳۸ درصد بود. در جدایه F2 نیز شدت بیماری ۸۸ درصد مشاهده شد. شانس و همکاران نیز نشان دادند که تولید آنتی‌بیوتیک فنازین در P.aureofaciens 30-

disease-suppressive or colonization by nonsuppressive bacteria and the effect size on severity of take-all of population caused by *Gaeumannomyces graminis* Thesis var. tritici. Ms (Washington State university. (Abstract Moenne-Loccoz, Y., Caroll, H -۷ Dowling, D., and Ogra, F. 1995. biosynthesis Mutational disruption of the genes coding for the antifungal metabolite diacetylphloroglucinol does not influence the ecological *Pseudomonas fluorescens* F113 fitness of in the rhizosphere of sugar beets. Applied Environmental Microbiology 61: 3002-3007 Pierson E. Chancey S. T., Wood D. W -۸ A., and Pierson III, L. S. 2002. Survival of GacS/GacA mutants of the biological control bacterium *Pseudomonas aureofaciens* 30-84 in the rhizosphere. Applied and Environmental Microbiology 68(7): 3308-3314 Chin-A-Woeng T. F. C., Bloemberg G. -۹ V., and Lungtenberg B. J. J. 2003 Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* Molecular Plant bacteria. Institute of Sciences 157: 503-523 Delaney, S. M., Mavrodi, D. V -۱۰. Bonsall, R. F., and Thomashow, L. S. 2000. phzO, a gene for hydroxylated phenazine -۲ biosynthesis of compounds in *Pseudomonas aureofaciens* of 30-84. Journal Bacteriology 183(1): 318-327 Dubuis C., Keel C., and Hass D -۱۱. Dialogues of root-colonizing biocontrol pseudomonads. European Journal of Plant Pathology 119: 311-328 Journal Ellis R. J., Timms-Wilson T. M., and -۱۲ Bailey M. J. 2000. Identification of conserved traits in fluorescent pseudomonads with antifungal activity. Environmental Microbiology 2: 274-284

84 سبب کنترل بیماری پاخوره گندم تا ۹۰ درصد می‌گردد. براین اساس نقش اساسی و مهم آنتی‌بیوتیک فنازین-۱-کربوکسیلیک اسید در کنترل بیماری پاخوره توسط جدایه های تولیدکننده آن دیده شد. در شش جدایه تولید کننده آنتی‌بیوتیک فنازین ۱- کربوکسیلیک اسید کنترل بیماری پاخوره گندم به خوبی صورت گرفت. همان گونه که مشاهده شد این جدایه‌ها شدت بیماری پاخوره را ۷۷-۸۰ درصد کاهش دادند. بر این اساس و انطباق داده‌ها با پژوهش‌های دانشمندان با احتمال بسیار بالایی نقش این آنتی‌بیوتیک در پژوهش ما دیده شد.

#### منابع:

Bais H. P., Weir T. L., Perry L. G., -۱ Vivanco J. M. 2006. The Gilroy S., and role of root exudates in with plants and rhizosphere interactions other organisms. Annual Review of Plant Biology 57: 233-266 Bagnasco P., Delafuente L., Gualtieri -۲ G., Noya F., and Anas A. 1998 Fluorescent *Pseudomonas* as biocontrol agent against forage legume pathogenic fungi. Soil. Biol. root Biochem. 30: 1317-1322 Ran L. X., Pieterse B., Bakker P. A. H. M -۳ C. M. J. and Van loon L. C. 2003. involvement Understanding the of rhizobacteria-mediated induction of biocontrol of plant systemic resistance in disease. Journal of Plant Pathology 25: 5-9 Bakker P. A. H. M., Pieterse C. M. J., -۴ and Van Loon L. C. 2007. Induced Resistance by Systemic Fluorescent *Pseudomonas* spp. Phytopathology 97: 239-243 Botelho G. R., and Mendonça-Hagler -۵ L. C. 2006. Fluorescent pseudomonads associated with the rhizosphere of crops-an overview. Microbiology 37: 401- Brazilian Journal of 416 Bull C. T. 1987. Wheat root -۶

Ge Y., Huang X., Wang S., Zhang X., -۱۳  
Phenazine-1-carboxylic .and Xu., Y. 2004  
acid is negatively  
positively regulated and pyoluteorin  
regulated by gacA in *Pseudomonas* sp.  
M18. FEMS Microbiology  
letters 237: 41-47

