کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی
دورهٔ ۵، شمارهٔ ۲، پاییز و زمستان ۱۳۹۵ (۲۳۴-۲۲۳)
DOI: 10.22059/jbioc.2016.61200

تأثیر چهار استرین پروبیوتیک .*Pseudomonas* spp و .*Bacillus* spp در افزایش فاکتورهای رشدی و کاهش شاخص‌های بیماری در دو رقم پسته در حضور نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne incognita*)

۱. اعظم زین‌الدینی‌ریسه؛ ۲. عصمت مهدیخانی‌مقدم*؛ ۳. حمید روحانی؛ ٤. محمد مرادی؛ ۵. روح اله صابری‌ریسه
۱، ۲ و ۳. دانشجوی دکتری بیماری‌شناسی‌گیاهی و استادان گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی‌مشهد
٤. استادیار، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، مرکز تحقیقات پسته، سازمان توسعه و آموزش تحقیقات کشاورزی رفسنجان
۵. دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولیعصر(عج) رفسنجان
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱/۳۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۵/۱۰)

چکیده

پتانسیل ٤ استرین باکتریایی پروبیوتیک شامل *Pseudomonas fluorescens* VUPF5, VUPF52 و *Bacillus cereus* IPRI95 و *Bacillus subtilis* IPRI96 در افزایش فاکتورهای رشدی دو رقم پسته در شرایط حضور و عدم حضور نماتد (*Meloidogyne incognita*) بررسی شد. آزمایشی بر اساس طرح فاکتوریل با سه فاکتور رقم (بادامی و سرخس)، بیماری (حضور نماتد، عدم‌حضور نماتد) باکتری (شاهد، IPRI95, IPRI96, VUPF5, VUPF52) درقالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام پذیرفت. فاکتورهای رشدی به دنبال تیمار باکتریایی در هر دو رقم افزایش نشان داد که مقادیر آن در رقم سرخس در مقایسه با شاهد بیشتر بود. حداکثر مقادیر افزایش‌یافته برای نهال‌های پسته تیمارشده با باکتری‌ها در حضور نماتد برای طول ساقه برابر با ۷۵/۱ و ۱۲/۱، طول ریشه ۵۰/٦۳ و ۲۹/٦، وزن تر ساقه ۱۱۵ و ۳٤، وزن تر ریشه ٦۳ و ۳۱، وزن خشک ساقه ۳٤/٤۱ و ۱۸/۵۲ و وزن خشک ریشه ۱ و ۱۷/۱ درصد به‌ترتیب برای رقم سرخس و بادامی به‌دست آمد. تعداد گال بعد از چهار ماه در حضور باکتری به میزان ٤۹/۷ و ٦٤/٤ درصد و تعداد کیسه تخم ۳۰/۵ و ۷۱ درصد به‌ترتیب در رقم سرخس و بادامی در مقایسه با شاهد کاهش داشتند.

کلیدواژگان: باکتری‌های پروبیوتیک، نماتد ریشه گرهی، رقم، پسته، کیسه تخم.

Effect of four probiotic strains of *Pseudomonas* spp. and *Bacillus* spp. on increase of growth factors and disease indicators in two pistachio cultivars in presence of root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*)

Azam Zeynaddini Riseh[1], Esmat Mahdikhani Moghadam[2*], Hamid Rohani[3], Mohammad Moradi[4] and Roholla Saberi Riseh[5]
1, 2, 3. Ph. D. Student and Professors, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
4. Assistant Professor, Horticultural Sciences Research Institute, Pistachio Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Rafsanjan, Islamic Republic of Iran
5. Associate Professor, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Vali-e-Asr university of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran
(Received: Apr. 19, 2016 - Accepted: Jul. 31, 2016)

ABSTRACT

The ability of four bacterial strains include *Pseudomonas fluorescens* VUPF5, VUPF52 and *Bacillus cereus* IPRI95, *Bacillus subtilis* IPRI96 on increase of growth parameters of two cultivars of pistachio in presence and absence of *Meloidogyne incognita* was evaluated. The experiment was a factorial design in a complete randomized design with the three factors including cultivar (Badami and Sarakhs), disease (presence and absence of nematode) and probiotic bacteria (*Pseudomonas fluorescens* strains VUPF5, VUPF52, *Bacillus cereus* strain IPRI95, *Bacillus subtilis* strain IPRI96 and water) in three replications. All of measured parameters showed considerable increases following treatment with bacterial strains in both cultivars. However, this increase in Sarakhs cultivar was higher than Badami cultivar. The maximum increase in treated pistachio seedlings was recorded for shoot height by 75.1, 12.1, root height by 50.63, 29.6, fresh shoot weight by 115, 34, fresh root weight by 63, 31, dry shoot weight by 34.41, 18.52 and for dry root weight by 1, 17.1 percent in Sarakhs and Badami cultivars respectively as compared with control. The number of galls and number of egg masses four month after inoculation was significantly decreased by 49.7 and 30.5%, for cv. Sarakhs and 64.4 and 71%, for cv. Badami respectively as compared with nontreated seedlings.

Keywords: Cultivar, egg mass, pistachio, probiotic bacteria, root knot nematode.

* Corresponding author E-mail: mahdikhani_e@um.ac.ir Tel: +98 913 2931575

مقدمه

پسته (*Pistacia vera* L.) به‌عنوان یکی از مهمترین محصولات باغی و سومین کالای صادرا تی ایران از اهمیت اقتصادی ویژه در بین محصولات کشاورزی برخوردار است که به‌خاطر کیفیت عالی آن دربین کشورهای تولیدکننده این محصول ازمرغوبیت ویژه‌ای برخوردار است به همین دلیل پسته ایران در بین محصولات صادراتی و ارزآور کشور اهمیت خاصی داشته و باید برای حفظ موقعیت جهانی آن تلاش بیشتری اعمال شود (Berya and Jebeli ameli 2006). در بررسی که از باغات پسته و بادام ایران انجام شده است ۲۶ گونه، متعلق به ۱۳ جنس از نماتدهای راسته Tylenchida گزارش شده است (Aliramji *et al*. 2005). دو گونه *Meloidogyne incognita* و *M. javanica* در اغلب اوقات از باغات پسته در استان‌های مختلف جداسازی شده است (Farivar Mehin 1984, Fatemy 2009). خسارت ناشی از نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne* spp.)، به دلیل عدم مدیریت صحیح و رعایت اصول بهداشت‌زراعی، هزینه بالا و خطرات مصرف نماتدکش‌ها و نبود پایه‌هایی مقاوم در این محصول، زیاد و رو به افزایش است. از طرف دیگر با توجه به بررسی-های فریور مهین این نماتد می‌تواند دارای حداقل پنج نسل در سال بر روی درختان در جنوب کشور باشد و این خود می‌تواند سبب تشکیل جمعیت‌هایی با قدرت بیماریزایی بالا شود (Farivar Mehin 1984). نماتد با توجه به قدرت تکثیری و جمعیت بالای آن در باغات پسته، علاوه بر ایجاد اختلال در جذب آب و مواد غذایی گیاه که باعث ضعیف شدن شدید درختان می‌گردد. از سوی دیگر سبب نفوذ و گسترش بیماری‌ها و آفات ثانویه در این درختان می‌شود. در طبیعت، جمعیت‌های نماتد ریشه‌گرهی توسط تعدادی از میکروارگانیزم‌های خاک شامل پرداتورها، قارچ‌های نماتدخوار، قارچها و باکتری‌های اندوفیت تحت تأثیر قرار می‌گیرند (Viaene *et al*. 2006). معمولاً گروه وسیعی از باکتری‌ها نظیر *Pseudomonas*، *Azospirillum*، *Azotobacter*، *Bacillus*، *Klebsiella Enterobacter* و *Xanthomonas* هستند که سبب تقویت رشد گیاهان در شرایط تنش مانند عوامل بیماری‌زا می‌شوند (Poi and Kabi 1979, Pillary and Nowak 1997). در این بین سویه‌هایی از سودوموناس فلورسنت و باکتری‌های تشکیل‌دهنده اسپور (گونه‌های باسیلوس) در بین غالب‌ترین باکتری‌هایی هستند که قادر به کنترل نماتدها می‌باشند (Viaene *et al*. 2006).

باکتری‌های افزایش‌دهنده رشدگیاه (PGPR) تأثیر مثبتی بر روی پارامترهای گیاهی مانند نرخ جوانه‌زنی، تحمل به خشکی، وزن شاخه‌ها و ریشه‌ها، بازده محصول و رشد گیاه تحت استرس‌های خشکی دارند (Kloper *et al*. 2004, Yildirim *et al*. 2006). این باکتری‌ها با افزایش جذب مواد غذایی یا به واسطه توقف بیمارگرهای گیاهی با تولید آنتی بیوتیک‌ها، سیدروفورها، مواد ضد میکروبی و همچنین با تولید مواد فعال بیولوژیکی نظیر اکسین‌ها و دیگر هورمون‌های گیاهی در ارتباط می‌باشد. برخی از استرین‌های افزایش دهنده رشد گیاه علاوه بر اثرات مستقیم قادرند با القای مقاومت سیستمیک (Induce Systemic Resistance) به‌طور غیرمستقیم گیاهان را از بیمارگرها محافظت نمایند (Siddiqui and Shaukat 2002، Bakker *et al*. 2007). تاکنون گزارشات متعددی مبنی بر استفاده از باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه برای کنترل نماتدهای بیماریزا در گیاهان مختلف گزارش شده است. کارایی برخی از استرین‌های *P. fluorescens* در کاهش تکثیر نماتد *M. incognita* و شدت بیماری و همچنین افزایش فاکتورهای رشدی در شرایط مزرعه بر روی گیاه گوجه‌فرنگی معنی‌دار و قابل مقایسه با نماتدکش کربوفوران بود (Kavitha *et al*. 2007). کاربرد استرین *B. subtilis* 7612 به تنهایی یا در ترکیب با قارچهای آنتاگونیست نتایج معنی‌داری در افزایش طول و وزن خشک اندام هوایی در گیاه گوجه‌فرنگی در حضور نماتد *M. incognita* در قیاس با تیمار شاهد بدون تلقیح نشان داد. به‌طوری‌که این باکتری به تنهایی سبب افزایش ۳۲/۴ درصدی وزن خشک اندام هوایی گیاه و در ترکیب با قارچ آنتاگونیست *Aspergillus niger* CA سبب افزایش بیشتر ۶۰/۹ درصدی در وزن خشک اندام هوایی گیاهان آلوده به نماتد ریشه‌گرهی گردید (Siddiqui and Akhtar 2009). استرین خاصی از *P. putida* سبب افزایش رشد و بازده در سیب‌زمینی، چغندر قند و تربچه شد به‌طوری‌که

افزایش بازده محصولات رشد معنی‌دار و قابل توجه ۱۴۴ درصدی را در مقایسه با شاهد نشان دادند (Kloepper *et al*. 1980). مطالعات قبلی در گیاهان مختلف نشان داده است که استرین‌های باسیلوس و سودوموناس قادر به کنترل نماتد از طریق کاهش در نفوذ لارو سن دوم، کاهش در مهاجرت لارو سن دوم به سمت ریشه‌های تیمارشده با باکتری آنتاگونیست، کاهش در تفریخ تخم و به دنبال آن تخفیف شدت بیماری نماتدی می‌شوند (Lian *et al*. 2007, Padgham and Sikora 2007, Huang *et al*. 2010). استفاده از باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه برای کشاورزی پایدار به‌طور گسترده و چشمگیری در نقاط مختلف جهان در حال گسترش می‌باشد. افزایش قابل توجه در رشد و بازده محصولات مهم کشاورزی به دنبال مایه‌زنی آن‌ها با باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه گزارش شده است، لذا با توجه به خسارت گسترده نماتد ریشه‌گرهی در باغات، شناسایی و کاربرد عوامل کنترل بیولوژیک در باغات پسته در برنامه مدیریت تلفیقی ضروری به‌نظر می‌رسد. برای این منظور تأثیر چهار استرین باکتریایی *P. fluorescens* استرین‌های IPRI96, VUPF5, *B. subtilis* VUPF52 و *B. cereus* IPRI95 در کنترل نماتد ریشه‌گرهی *M. incognita* و فاکتورهای رشدی در دو رقم پسته بررسی گردید. از آنجایی که مقاومت ارقام پسته به نماتد ریشه‌گرهی به‌ترتیب خنجری رفسنجانی، قزوینی، سرخس، فندقی و بادامی کاهش می‌یابد (Madani *et al*. 2012). درجه حساسیت رقم و تأثیر آن بر افزایش فاکتورهای رشدی و شاخص‌های بیماری نیز ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه اینوکولوم باکتریایی

در تمامی آزمایشات از چهار استرین باکتریایی شامل *P. fluorescens* استرین‌های VUPF5 و VUPF52 (گرفته شده از کلکسیون آزمایشگاه بیماری‌شناسی، دانشگاه ولیعصر (عج) رفسنجان) و *B. cereus* IPRI95 و *B. subtilis* IPRI96 (گرفته شده از کلکسیون باکتریایی آزمایشگاه بیماری‌شناسی، مرکز تحقیقات پسته کشور) استفاده گردید. برای تهیه سوسپانسیون، استرین‌های باکتریایی در محیط کشت مایع غذایی (NB) برای ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس کشت داده شد و میزان ۱۰ سی‌سی از سوسپانسیون باکتریایی با غلظت 10^8 cfu/ml برای تیمار نهال‌های پسته استفاده گردید.

تهیه اینوکولوم نماتدی

خاک و نمونه‌های ریشه پسته آلوده از باغات پسته رفسنجان (استان کرمان) جمع‌آوری شد. تک کیسه تخم از ریشه جدا و به‌طور جداگانه هر کیسه تخم روی نشای گوجه‌فرنگی رقم Earlyurbana قرار داده شد تا یک جمعیت خالص از نماتد تهیه شود. بر اساس مشخصات ریخت‌سنجی و ریخت‌شناسی لارو سن دوم و همچنین ریخت‌شناسی کوتیکول انتهایی ماده (Perineal pattern) شناسایی گونه غالب منطقه انجام شد (Eisenback and Triantaphyllou 1991, Jepson 1987). لاروهای سن دوم نماتد را با خرد کردن ریشه‌های گوجه‌فرنگی حاوی گال در یک مخلوط‌کن و عبور دادن سوسپانسیون حاصل از سری الک‌ها به‌طوری‌که تخم‌ها بر روی الک ۵۰۰ مش جمع‌آوری و برای تفریخ تخم این سوسپانسیون را روی دستمالی که داخل یک الک که سوراخ‌های درشت داشت ریخته شد. این مجموعه را داخل ظرف پتری که کف آن آب ریخته شده بود قرار داده و برای یک هفته لاروهای تفریخ‌شده، هر ۲۴ ساعت یک بار از آب داخل پتری جمع‌آوری شد (Hussey and Barker 1973). دو هزار لارو سن دوم به‌عنوان سوسپانسیون نماتدی برای تلقیح نهال‌های پسته استفاده گردید.

مواد گیاهی و روش تلقیح

بذر پسته دو رقم بادامی و سرخس از مرکز تحقیقات پسته تهیه گردید. بذور ابتدا در محلول هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد برای ۳ دقیقه استریل سطحی شدند سپس با آب مقطر استریل شسته و برای جوانه‌زنی در شن استریل به مدت یک هفته در دمای ۲۸ درجه سلسیوس قرار گرفتند.گیاهچه‌ها در مرحله برگ لپه‌ای با ترکیب بنومیل ضد عفونی و به نسبت یک عدد برای هر گلدان به گلدان‌های حاوی خاک استریل منتقل شدند. نهال‌های پسته در مرحله‌ی ۱۰-۸ برگی آماده

برای مایه‌زنی بودند. برای مایه‌زنی نهال‌های پسته با سوسپانسیون نماتدی یا باکتریایی میزان ۱۰ سی‌سی از سوسپانسیون باکتریایی یا تعداد ۲۰۰۰ لارو سن دوم به ۳ حفره که در اطراف نهال‌ها ایجاد شده بود، وارد و سپس با خاک این سوراخ‌ها پوشانده شد. در تیمار شاهد از آب استفاده شد. بعد از گذشت ۹۰ روز گیاهان از خاک خارج شدند و برای مراحل بعدی آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند.

اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی و نماتدی

پارامترهای رویشی که در این آزمایش اندازه‌گیری شد، شامل ارتفاع ساقه، طول سیستم ریشه‌ای، وزن‌تر و خشک اندام هوایی و ریشه بودند. برای اندازه‌گیری وزن خشک بخش هوایی و ریشه نمونه‌های تهیه شده به‌طور جداگانه به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند و وزن خشک آن‌ها با ترازوی Mettler مدل AE160 جداگانه اندازه‌گیری شد. توانایی استرین‌های باکتریایی در کنترل نماتد ریشه‌گرهی در هر دو رقم محاسبه گردید. برای این منظور نهال‌های پسته تیمارشده با باکتری‌ها، توسط ۲۰۰۰ لارو سن دوم نماتد *M. incognita* تلقیح گردیدند. گلدان‌ها در گلخانه به مدت چهار ماه نگه‌داری شدند. بعد از گذشت این مدت زمان ریشه‌های هر گلدان جداگانه شستشو شد و تعداد گال و کیسه تخم در یک گرم ریشه در زیر بینوکولر شمارش گردید. خاک هر گلدان کاملاً مخلوط و سپس تعداد لارو سن دوم در ۲۵۰ گرم خاک هر گلدان با استفاده از روش سینی وایت‌هد استخراج و شمارش گردید و این تعداد در وزن خاک هر گلدان ضرب شد تا تعداد لارو سن دوم هر گلدان محاسبه شود. درصد افزایش پارامترهای رشدی به این صورت محاسبه شد که عدد به‌دست آمده از پارامتر مورد نظر در حضور تیمار باکتریایی را در عدد ۱۰۰ ضرب و سپس عدد حاصل بر عدد متناظر آن در تیمار شاهد تقسیم گردید، حاصل تقسیم از عدد ۱۰۰ کم شد و به این ترتیب درصد افزایش پارامتر مورد نظر در اثر تیمار باکتریایی محاسبه شد.

آنالیز آماری

این پژوهش به صورت فاکتوریل با سه فاکتور شامل رقم (بادامی و سرخس)، بیماری (نماتد و شاهد) و استرین‌های باکتریایی افزایش‌دهنده رشد (شاهد، VUPF52، VUPF5، IPRI95 و IPRI96) در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام پذیرفت. داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری (Version 9.1) SAS تجزیه و تحلیل شدند و مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال ۵ درصد توسط آزمون دانکن انجام شد. با استفاده از برنامه (Version 14) MINITAB آزمون نرمالیته روی داده‌ها انجام شد.

نتایج و بحث

شناسایی گونه نماتدی

با توجه به اندازه‌های به‌دست‌آمده از مشخصات ریخت‌سنجی حداقل ۱۰ نمونه لارو سن دوم نماتدی مربوط به هر نمونه خاک و مقایسه آن با کلید شناسایی گونه‌های این نماتد و همچنین بر اساس مشخصات ریخت‌شناسی برش‌های به‌دست آمده از انتهای بدن نماتدهای ماده، گونه غالب منطقه گونه *M. incognita* بود هر چند در تعدادی از نمونه‌ها گونه *M. javanica* نیز مشاهده گردید (Jepson 1987).

اثر تیمارهای باکتریایی برشاخص‌های رشدی

طول ساقه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر رقم، تیمار باکتریایی، بیماری و اثرات سه‌گانه آن‌ها تفاوت معنی‌داری بر طول ساقه نهال‌های پسته داشت (جدول۱). نتایج نشان داد که مایه‌زنی نهال‌های پسته با نماتد سبب کاهش طول ساقه به‌ترتیب ۲۳ و ۳۶ درصد در رقم‌های بادامی و سرخس در مقایسه با تیمار شاهدگردید. با توجه به اینکه رقم سرخس از بادامی حساسیت کمتری به آلودگی نماتدی دارد کاهش بیشترطول ساقه احتمالا به دلیل افزایش یافتن سطح برخی از هورمون‌های گیاهی مانند IAA در رقم بادامی به دنبال آلوده شدن با نماتد ریشه‌گرهی باشد. این نتایج با نتایج مطالعات کورایم و همکاران مطابق است که در ژنوتیپ بسیار حساس چغندر قند افزایش معنی‌دار و بیشتری را در IAA، در مقایسه با برخی از ارقام با حساسیت کم و متوسط گزارش نمودند (Korayem *et*

al. 2012). نتایج مقایسه میانگین بین تیمارها در رقم سرخس نشان داد، طول ساقه نهال‌های پسته تیمارشده با چهار استرین باکتریایی افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد دارند. در حالی‌که در رقم بادامی استرین *B. subtilis* IPRI96 تأثیری در افزایش طول ساقه نداشت. حداکثر میزان افزایش طول ساقه برابر با ۱۲/۱ و ۷۵/۱ درصد به‌ترتیب برای رقم بادامی و سرخس به‌دست آمد. کورایم و همکاران نیز نتایج مشابهی را گزارش دادند به‌طوری‌که در چغندر قند ژنوتیپ‌های حساس‌تر به نماتد ریشه‌گرهی دارای رنگدانه‌های فتوسنتزی و رشد کمتر در مقایسه با ژنوتیپ‌های مقاوم بودند (Korayem *et al*. 2012).

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر رقم، باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد (PGPR) و بیماری نماتدی بر پارامترهای رشدی پسته

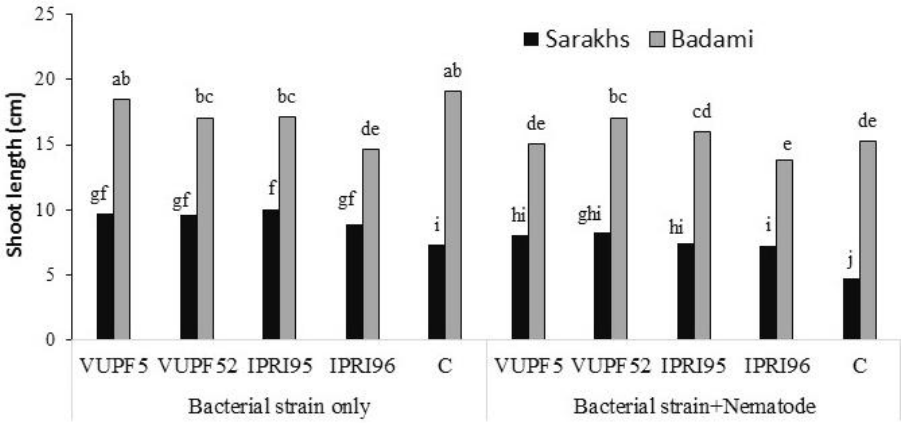
Table 1. Analysis of variance of effect of cultivar and PGPR and nematode on pistachio growth factors

Treatment	df	Mean of squares					
		Shoot length (cm)	Root length (cm)	Fresh shoot weight (g)	Fresh root weight (g)	Dry shoot weight (g)	Dry root weight (g)
Cultivar (C)	1	10.18**	65.81**	12.21**	1.63**	4.99**	0.19**
PGPR	4	7.91**	131.87**	0.59**	0.29**	0.13**	0.04**
Disease (D)	1	53.83**	605.35**	1.80**	6.03**	0.48**	1.19**
C×PGPR	4	9.80**	29.22**	0.02^{ns}	0.21**	0.04**	0.11**
C×D	1	0.07^{ns}	89.83**	30.001^{ns}	0.10**	0.02*	0.003^{ns}
D×PGPR	4	3.06^{ns}	9.25*	0.09**	0.30**	0.03**	0.08**
C×PGPR×D	4	1.67*	11.01*	0.07*	0.09**	0.06*	0.10**
Error	40	0.88	3.88	0.02	0.02	0.004	3.09
C.V. (%)		5.3	6.18	12.99	8.59	9.13	11.29

ns، * و **: معنی‌دار نبودن بین تیمارها، اختلاف معنی‌دار درسطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

میانگین‌ها با حروف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر هستند.

ns, *, **: Non significantly different, significant different at 5% and 1%, respectively.
Means followed by the same letter are not significantly different from each other.



شکل ۱. تأثیر مایه‌زنی نهال‌های پسته با استرین‌های باکتریایی به تنهایی و همزمان با مایه‌زنی نماتد روی طول ساقه دو رقم پسته

ستون دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد باهم ندارند

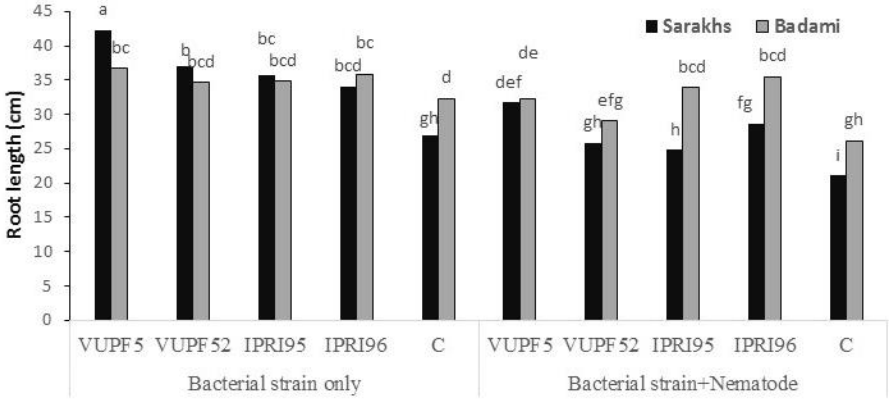
Figure 1. Effect of bacteria treatments in pistachio seedlings on shoot height of two pistachio cultivars in presence and absence of nematode.

Treatments with the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test (p-value < 0.05).

طول سیستم ریشه

طول ریشه‌ها به دنبال آلوده شدن با نماتد در مقایسه با تیمار شاهد (آب)، ۲۲ و ۱۹/۱درصد به‌ترتیب در رقم‌های سرخس و بادامی کاهش نشان داد. این در حالی است که به دنبال تیمار ریشه‌های پسته با استرین‌های باکتریایی ما شاهد افزایش معنی‌داری در طول ریشه بودیم به‌طوری‌که حداکثر افزایش طول ریشه در رقم بادامی در تیمار با استرین IPRI95 و در رقم سرخس به دنبال تیمار با استرین VUPF5 حاصل شد. میزان این افزایش برابر با ۲۹/۶ و ۵۰/۶۳درصد به‌ترتیب در رقم‌های

بادامی و سرخس در مقایسه با تیمار شاهد (فقط نماتد) به‌دست آمد. افزایش قابل توجه طول ریشه در رقم سرخس، شاید به دلیل ترشحات ریشه و کلنیزاسیون وسیع‌تر ریشه‌های این رقم باشد به‌طوری‌که والتر و همکاران عقیده دارند عکس‌العمل ریزوباکتری‌ها به ترشحات ریشه گیاهان مختلف متفاوت می‌باشد (Walters *et al.* 2013). تغییرات کمتری در طول سیستم ریشه در رقم بادامی که با استرین مختلف باکتری مایه‌زنی شده بودند نسبت به رقم سرخس در شرایط عدم حضور و همچنین حضور نماتد مشاهده گردید (شکل ۲).



شکل ۲. تأثیر مایه‌زنی نهال‌های پسته با استرین‌های باکتریایی به تنهایی و همزمان با مایه‌زنی نماتد روی طول ریشه دو رقم پسته
ستون دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد باهم ندارند

Figure 2. Effect of bacteria treatments in pistachio seedlings on root height of two pistachio cultivars in presence and absence of nematode.
Treatments with the same letters are not significantly different according toDuncan's multiple range test (p-value < 0.05).

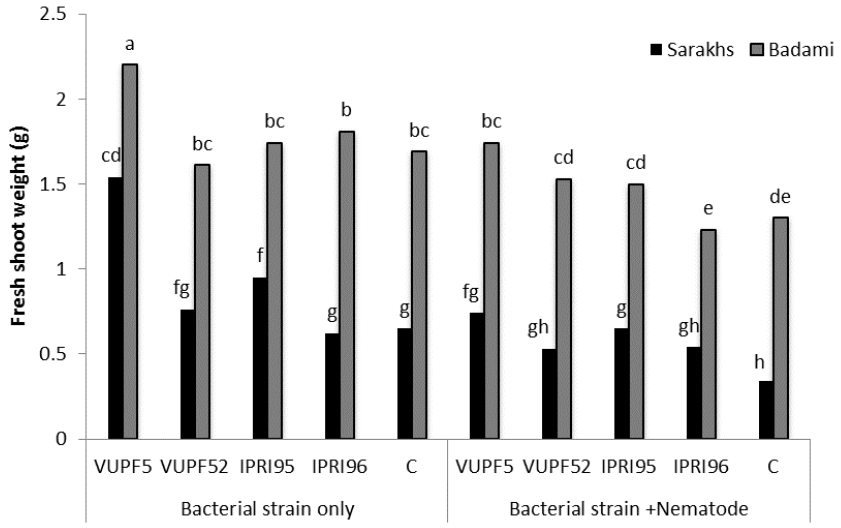
وزن تر ساقه

نتایج، نشان‌دهنده تأثیر حضور نماتد بر کاهش وزن تر ساقه بود به‌طوری‌که به دنبال تیمار باکتریایی این پارامتر افزایش نشان داد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین بین تیمارها حاکی از کاهش وزن تر ساقه در نهال‌های پسته مایه‌زنی شده با نماتد برابر با ۲۳/۲ و ۴۷/۲ درصد به‌ترتیب برای رقم بادامی و سرخس بود. همچنین نتایج نشان داد که استرین VUPF5 تأثیر بهتری بر وزن‌تر ساقه نسبت به سایر استرین‌ها در هر دو رقم داشت. به‌طوری‌که میزان افزایش وزن تر ساقه در شرایط بدون حضور نماتد برابر با ۱۳۵ و ۳۰ درصد و در حضور نماتد برابر با ۱۱۵ و ۳۴ درصد به‌ترتیب برای رقم سرخس و بادامی در مقایسه با تیمار شاهد بود (شکل۳). این استرین با توجه به نتایج خاتمی‌دوست و همکاران دارای توانایی تولید سیدروفور و همچنین کلنیزه‌کننده گسترده ریشه‌های پسته می‌باشد که این خود دلیلی بر افزایش قابل ملاحظه وزن تر ساقه توسط این استرین به خصوص در رقم سرخس می‌باشد (Khatamidoost *et al.* 2015). از طرف دیگر صدیقی و همکاران نشان دادند که باکتری *P. putida* با توجه به کلنیزه نمودن گسترده ریشه عدس و تولید سیدروفور بیشتر در مقایسه با دیگر استرین‌های PGPR سبب افزایش رشد بیشتر گیاه عدس و کاهش بیشتر جمعیت نماتد ریشه‌گرهی *M. javanica* گردید (Siddiqui *et al.* 2007).

وزن تر ریشه

نتایج، نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اثر رقم، تیمار باکتریایی و نماتد و برهم‌کنش آنها در سطح احتمال یک درصد بر وزن تر ریشه نهال‌های پسته می‌باشد (جدول۱). نتایج مقایسه میانگین بین تیمارها نشان داد که مایه‌زنی با نماتد سبب کاهش وزن تر ریشه پسته نسبت به گیاهان شاهد گردید که این میزان برابر با ۶۳/۷۳ و ۴۶ درصد به‌ترتیب برای رقم بادامی و سرخس بود. تیمار نهال‌ها با استرین‌های باکتری در حضور نماتد سبب افزایش قابل‌ملاحظه وزن تر ریشه در دو رقم شد (شکل۴). استرین VUPF52 و IPRI96 به‌ترتیب در رقم سرخس و بادامی سبب افزایش حداکثری در وزن تر ریشه شدند. این افزایش برابر با ۶۳ و ۳۱ درصد به‌ترتیب برای رقم

سرخس و بادامی در مقایسه با تیمار شاهد بود. نتایج این تحقیق مشابه با نتایج قبلی که گزارش نمودند دو استرین از *Pantoea agglomerans* 54 و *P. savastanoi* 176 اثر قابل ملاحظه‌ای بر جمعیت نماتد *M. ethiopica* دارند به‌طوری‌که سبب افزایش معنی‌داری در وزن ریشه در مقایسه با گیاهان شاهد آلوده به نماتد شدند (Aballay *et al.* 2013). آنها بازدارندگی از تفریخ تخم نماتد با متابولیت‌های ثانویه که باعث لیز شدن تخم‌ها می‌شوند را به‌عنوان یکی از مکانیسم‌ها گزارش نمودند. هر چند صدیقی و همکاران برخی از متابولیت‌ها مانند ۲و۴-دی استیل فلوروگلوسینول و تولید اسید سیانیدریک توسط گونه‌های سودوموناس را مانع تفریخ تخم‌های نماتد ریشه‌گرهی می‌دانند (Siddiqui *et al.* 2007). همچنین صدیقی و محمود بهبود رشد گیاهان تیمارشده با باکتری *B. subtilis* را در حضور نماتد ریشه‌گرهی به دلیل اثرات بازدارندگی این باکتری علیه نماتد می‌دانستند (Siddiqui and Mahmood 2001). حداکثر میزان افزایش فاکتورهای مربوط به ریشه (طول ریشه و وزن تر ریشه) در واکنش بین نوع استرین باکتریایی و رقم پسته تفاوت نشان داد؛ به‌طوری‌که تیمارهای باکتریایی مربوط به جنس سودوموناس در رقم سرخس و جنس باسیلوس در رقم بادامی حداکثر افزایش را در فاکتورهای ذکر شده نشان دادند. که این خود نشان دهنده ترجیح میزبانی و مناسب بودن شرایط تکثیر هر کدام از این باکتری‌ها در حضور ترشحات خاص گونه میزبان می‌باشد. یکی از مهمترین فاکتورها برای عملکرد خوب باکتری‌های افزایش دهنده رشد، کلنیزاسیون ریشه می‌باشد که تحت تأثیر فاکتورهای مربوط به رشد ریشه می‌باشند (Aballay *et al.* 2013). در بررسی تغییرات بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های چغندرقند به دنبال آلودگی با نماتد ریشه‌گرهی مشخص شد که واکنش ژنوتیپ‌ها به دنبال آلودگی با نماتد با یکدیگر تفاوت دارند به‌طوری‌که در بیشتر ژنوتیپ‌های مورد بررسی سبب افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم پراکسیداز گردید در حالی که در ژنوتیپ‌های Rosana و LP-15 سبب کاهش معنی‌دار این آنزیم شد. همچنین به دنبال آلودگی نماتدی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تا ۱۵۳ درصد در ژنوتیپ LP-15 افزایش نشان داد در حالی که در ژنوتیپ Rosana کاهش معنی‌دار، فعالیت این آنزیم را به دنبال داشت (Korayem *et al.* 2012). در تحقیق دیگری که در خصوص ترجیح میزبانی جمعیت‌های باکتریایی انجام شده بود مشخص گردید که جمعیت باکتری‌های اندوفیت در کولتیوارهای سیب زمینی به صورت اختصاصی عمل می‌کنند (Manter *et al.* 2010).

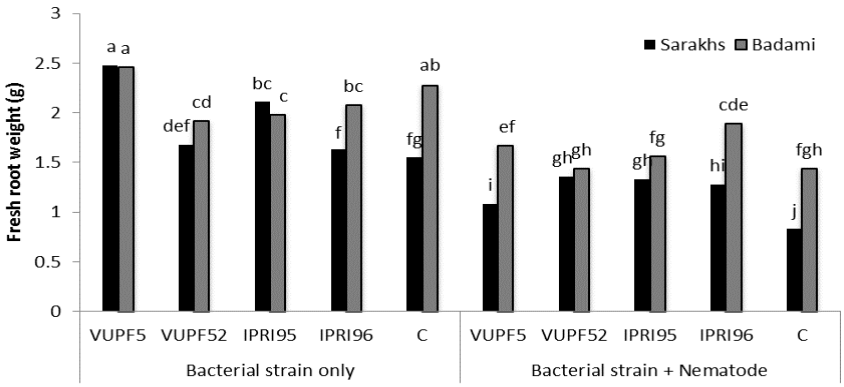


شکل ۳. تأثیر مایه‌زنی نهال‌های پسته با استرین‌های باکتریایی به تنهایی و همزمان با مایه‌زنی نماتد بر وزن تر ساقه دو رقم پسته

ستون دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد باهم ندارند

Figure 3. Effect of bacteria treatments in pistachio seedlings on fresh shoot weight of two pistachio cultivars in presence and absence of nematode.

Treatments with the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test (p-value<0.05).



شکل ۴. تأثیر مایه‌زنی نهال‌های پسته با استرین‌های باکتریایی به تنهایی و همزمان با مایه‌زنی نماتد بر وزن تر ریشه دو رقم پسته
ستون دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد باهم ندارند

Figure 4. Effect of bacterial treatments in pistachio seedlings on fresh root weight of two pistachio cultivars in presence and absence of nematode.
Treatments with the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test (p-value < 0.05).

وزن خشک ساقه

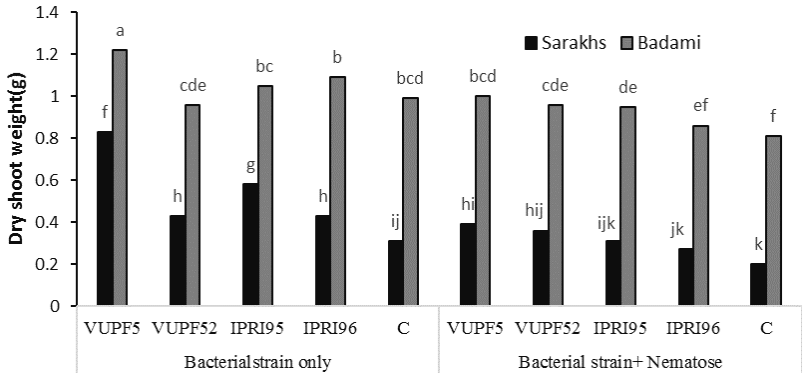
نتایج، نشان دهنده معنی‌دار بودن اثرات رقم، تیمار باکتریایی، نماتد، بر وزن خشک ساقه می‌باشد (جدول ۱). گیاهان آلوده به نماتد از وزن خشک کمتری نسبت به گیاهان شاهد برخوردار بودند. میزان کاهش وزن خشک ساقه در اثر حضور نماتد برابر با ۱۸/۵۲ و ۳۴/۴۱ درصد به‌ترتیب در رقم بادامی و سرخس در مقایسه با تیمار شاهد بود. غرابادیان و جمالی (۲۰۱۳) گزارش کردند که نماتد با ضعیف کردن سیستم ریشه‌ای گیاه و جلوگیری از رشد ریشه سبب کاهش انتقال مواد غذایی به سمت اندام‌های هوایی شده و در نهایت رشد گیاه کاهش می‌یابد (Gharabadian and Jamali 2013). همچنین مطالعات قبلی نشان داده است که تشکیل سلول‌های غول‌آسا به‌عنوان یک مکنده قوی برای هورمون اکسین عمل کرده و از تشکیل ریشه فرعی و ریشه موئین در گیاه سیب‌زمینی جلوگیری می‌کنند و به دنبال آن رشد گیاه کاهش می‌یابد (Vovlas *et al.* 1994). استرین VUPF5 سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک ساقه در هر دو رقم گردید که میزان این افزایش برابر با ۲۴/۳۸ و ۹۰/۱۷ درصد به‌ترتیب برای رقم بادامی و سرخس به‌دست آمد (شکل ۵).

باکتری‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه از طریق مکانیسم‌های مختلف مانند تثبیت کردن نیتروژن اتمسفر، سنتز هورمون IAA، تولید آنتی بیوتیک و تغییر مواد معدنی و ترکیبات آلی غیرقابل دسترس به شکل قابل‌دسترس گیاه می‌توانند سبب افزایش رشد گیاهان شوند (Rokhzadi *et al.* 2008). از طرف دیگر این باکتری‌ها با رقابت برای منابعی نظیر آهن یا با تولید آنتی‌بیوتیک‌ها، سیانید هیدروژن، پروتئازها و متابولیت‌های فرّار سبب کاهش خسارت نماتدها و به دنبال آن افزایش رشد گیاه می‌شوند (Siddiqui and Shaukat 2002). در تحقیق حاضر به دنبال کاهش خسارت بیماری شاهد افزایش وزن خشک ساقه بودیم.

وزن خشک ریشه

مایه‌زنی نهال‌های پسته با استرین‌های باکتریایی سبب افزایش قابل ملاحظه در وزن خشک ریشه گردید و در بین استرین‌های باکتریایی مورد مطالعه، استرین‌های IPRI95 و IPRI96 به‌ترتیب در رقم سرخس و بادامی بیشترین میزان افزایش را در وزن خشک هم در حضور و همچنین عدم حضور نماتد نشان دادند. به‌طوری‌که حضور نماتد سبب کاهش وزن خشک توسط این دو استرین در مقایسه با شرایط عدم حضور نماتد گردید. میزان کاهش برابر با ۳۳/۵۳ و ۲۴/۱ درصد به‌ترتیب در رقم سرخس و بادامی بود. لارو سن دوم با نفوذ به درون ریشه گیاه سبب تغییرات مورفولوژیکی روی ریشه شده که این تغییرات مورفولوژیکی منجر به تشکیل سلول‌های غول‌آسا می‌شود و در نهایت این سلول‌ها به‌عنوان یک مکنده قوی عمل کرده و قسمت عمده‌ای از مواد فتوسنتزی را به سمت خود جذب می‌کند و در نهایت رشد ریشه و گیاه کاهش می‌یابد (Viaene *et al.* 2006).

در مجموع می‌توان گفت استرین‌های باکتریایی در رقم سرخس نتوانستند سبب افزایش وزن خشک ریشه در حضور نماتد بشوند البته این نکته را باید متذکر شد که رقم سرخس طول قسمت هوایی و ریشه آن در شرایط طبیعی کمتر از رقم بادامی می‌باشد. در رقم بادامی حداکثر افزایش مربوط به استرین IPRI96 با میزان ۱۷/۱درصد در مقایسه با شاهد (فقط نماتد) بود (شکل۶). بر اساس نتایج احمد و همکاران اکثر ارقام گوجه‌فرنگی مایه‌زنی شده با *M. javanica* به دنبال تشکیل گال با اندازه‌های مختلف بر روی سیستم ریشه سبب کاهش وزن خشک ریشه گیاهان شدند (Ahmad *et al*. 1992). به‌طور کلی تیمارهای باکتریایی و مایه‌زنی با نماتد در رقم سرخس تأثیر بیشتری بر فاکتورهای مورد بررسی داشتند که این موضوع با گزارشات قبلی مطابق می‌باشد که احتمالا با ترشحات ریشه و مقاومت این رقم به نماتد بستگی دارد. مطالعات قبلی نشان داده است که توانایی افزایش رشد گیاهان توسط برخی از باکتری‌ها ممکن است به میزان زیادی با توجه به گونه گیاهی، کولتیوار و یا ژنوتیپ‌های گیاهی اختصاصی عمل نمایند. به‌طوری‌که مایه‌زنی با استرین‌های جدا شده از ریزوسفر کدو، گندم و کنف هندی سبب افزایش بازده دانه شد. اما این استرین‌ها با توجه به گونه گیاهی اختصاصی عمل می‌کردند (Poi and Kabi 1979, Pillary and Nowak 1997).

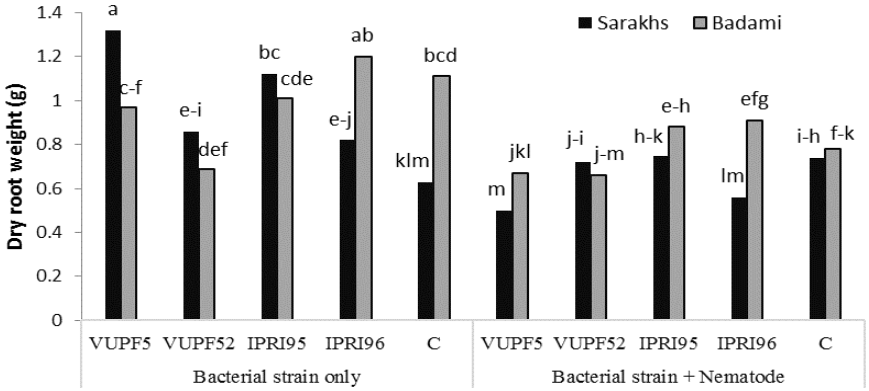


شکل ۵. تأثیر مایه‌زنی نهال‌های پسته با استرین های باکتریایی به تنهایی و همزمان با مایه‌زنی نماتد بر وزن خشک ساقه دو رقم پسته

ستون دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد باهم ندارند

Figure 5. Effect of bacteria treatments in pistachio seedlings on dry shoot weight of two pistachio cultivars in presence and absence of nematode.

Treatments with the same letters are not significantly different according toDuncan's multiple range test (p-value < 0.05).



شکل ۶. تأثیر مایه‌زنی نهال‌های پسته با استرین‌های باکتریایی به تنهایی و همزمان با مایه‌زنی نماتد بر وزن خشک ریشه دو رقم پسته

ستون دارای حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد باهم ندارند.

Figure 6. Effect of bacteria treatments in pistachio seedlings on dry root weight of two pistachio cultivars in presence and absence of nematode.

Treatments with the same letters are not significantly different according toDuncan's multiple range test (p-value < 0.05).

اثر تیمارهای باکتریایی بر فاکتورهای تکثیری نماتد

در هر دو رقم استرین‌های باکتریایی فاکتورهای تکثیری نماتد را تحت تأثیر قرار دادند. به‌طوری‌که تعداد گال و کیسه تخم درهر دو رقم کاهش نشان داد هر چند که در رقم سرخس بین تیمارهای باکتریایی تفاوت معنی‌داری دیده نشد اما در رقم بادامی استرین *P. fluorescens* VUPF52 بیشترین تأثیر را روی کاهش تعداد گال و کیسه تخم در مقایسه با سایر باکتری‌ها نشان داد. البته توانایی باکتری‌ها در کاهش فاکتورهای تکثیری نماتد در رقم حساس به نماتد (بادامی) با ارزش بود. تعداد لارو سن دوم نماتد در حضور باکتری‌ها حداکثر تا ۶۴ درصد توسط IPRI95 و ۷۱ درصد توسط VUPF52 به‌ترتیب در رقم سرخس و بادامی در مقایسه با تیمار شاهد کاهش نشان دادند هر چند که اختلاف بین تیمارها معنی‌دار نبود (جدول ۲). صدیقی و همکاران نشان دادند که استرین *P. fluorescens* CHA0 مانع تفریخ تخم نماتد *M. incognita* و القای مرگ‌ومیر در لاروهای این نماتد در گیاه گوجه‌فرنگی و سویا می‌شود و آنها نشان دادند که پروتئازهای خارج سلولی باکتری دارای فعالیت ضد نماتدی می‌باشند و متابولیت‌هایی مانند ۲،۴-دی استیل فلوروگلوسینول و سیانیدریک اسید توسط گونه‌های سودوموناس تولید می‌شود که سبب ممانعت از تفریخ تخم‌های نماتد ریشه‌گرهی می‌شوند (Siddiqui *et al*. 2005). در تحقیق دیگری مشخص شده است که *B. cereus* دارای اثرات نماتدکشی روی لاروها و تخم نماتد ریشه‌گرهی (*M. javanica*) می‌باشد و سبب محافظت از ریشه‌های گوجه‌فرنگی در برابر این نماتد شده است (Oka *et al*. 1993). ابالی و همکاران نشان دادند که استرین‌های باکتریایی مانند *B. mycoides* اثر معنی‌داری روی کاهش تعداد گال و نرخ تکثیر نماتد *M. ethiopica* دارند و این بازدارندگی را مرتبط با متابولیت‌های ثانویه تولیدشده توسط باکتری می‌دانستند که احتمالاً سبب لیز شدن تخم نماتد و از بین رفتن آن‌ها می‌شود (Aballay *et al*. 2013).

جدول ۲. تأثیر استرین‌های ریزو باکتریایی روی میانگین تعداد گال، کیسه تخم و لارو سن دوم نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne incognita*)

Table 2. Effects of rhizobactrial strains on mean number of root galls, egg masses and second juveniles of root-knot nematode *Meloidogyne incognita*

Treatment	Sarakhs cultivar			Treatment	Badami cultivar		
	Gall NO.	Egg masses NO.	J2/pot		Gall NO.	Egg masses NO.	J2/pot
Nematode	136.67 a	42.66 a	588.3 a	Nematode	173.33 a	96.66 a	899.3a
VUPF52	68.67 b	30.33 a	222.7 b	VUPF52	61.67 c	28 c	262 b
VUPF5	94.67 b	38.33 a	258.0 b	VUPF5	121 b	42.33 b	282 b
IPRI95	87.33 b	36.33 a	214.0 b	IPRI95	91.67 bc	36.33 bc	264 b
IPRI96	100.33 ab	29.66 a	261.7 b	IPRI96	98.67 bc	37.33 bc	322.3 b

تعداد گال‌ها و کیسه تخم در یک گرم از وزن ریشه محاسبه گردید.

تیمارها با حروف یکسان با توجه به آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

Galls number and egg masses number calculated in one gram of pistachio root.

Treatments with the same letters are not significantly different according to Duncan's multiple range test (p-value < 0.05).

با توجه به بالا بودن جمعیت نماتد ریشه‌گرهی و خسارت شدید آن در باغات پسته، نبود ارقام با مقاومت بالا به نماتد، مقرون به صرفه نبودن و خطرات مصرف نماتدکش‌ها، دامنه میزبانی گسترده مانند علف‌های‌هرز می‌توان استفاده از عوامل کنترل‌بیولوژیک را در برنامه مدیریت تلفیقی با نماتد ریشه‌گرهی قرار داد. البته بررسی‌های آینده در خصوص کاربرد ترکیبی این باکتری‌ها با یکدیگر و با قارچ‌های کنترل‌کننده، میکوریزها و حتی کودهای دامی در سطح باغات پسته لازم به‌نظر می‌رسد.

REFERENCES

Aballay E, Ordenes P, Martensson A, Persson P (2013) Effects of rhizobacteria on parasitism by *Meloidogyne ethiopica* on grapevines. European Journal of Plant Pathology 135(1): 137-145.

Ahmad R, Khan MA, Sahi ST, Dogar MA (1992) Reaction and development of selected tomato cultivars against root-knot nematode (*M. javanica*). Pakistan Journal of Phytopathology 4(1): 37-40.

Aliramaji F, Pourjam E, Karegar A (2005) Some tylenchids associated with pistachio and almond trees in Iran. *In:* IV International symposium on pistachios and almonds, 22 May, Tehran, Iran. 659-666.

Bakker PA, Pieterse CM, Van Loon LC (2007) Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. Phytopathology 97(2): 239-243.

Jebeli ameli F (2006) Factors affecting export of pistachio saffron and dates in the non-oil commodities basket. Journal of Agriculture and Development 14(54): 85-102. (in Persian)

Eisenback JD, Triantaphyllou HH (1991) Root-knot nematodes: *Meloidogyne* species and races, *In*: Nickle WR (ed.), Manual of agricultural nematology. Marcel Dekker, New York. pp. 191-274.

Farivar Mehin H (1984) Study of the Root-knot Nematodes on Pistachio in Iran. *In:* Proceeding of the first International Congress of Nematology, 5-10 Aug, Guelph, Ontario, Canada. 26-27.

Fatemy S (2009) Integrated management of pistachio nematodes, *In*: Ciancio A, Mukerji KG (ed), Integrated management of fruit crops and forest nematodes. Springer, Netherlands. pp. 243-252.

Gharabadian F, Jamali C (2013) Application of amendments in control of root-knot nematode. Journal of Agricultural and Natural Resources 39: 1-3. (in Persian)

Huang Y, Xu C, Ma L, Zhang K, Duan C, Mo M (2010) Characterisation of volatiles produced from *Bacillus megaterium* YFM3. 25 and their nematicidal activity against *Meloidogyne incognita*. European Journal of Plant Pathology 126(3): 417-422.

Hussey RS, Barker KR (1973) A Comparison of methods of collecting inocula for *Meloidogyne* spp., including a new technique. Plant Disease Reporter 57(1): 1025-1028.

Jepson SB (1987) Identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* species). C.A.B international, UK.

Kavitha J, Jonathan EI, Umamaheswari R (2007) Field application of *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* and *Trichoderma viride* for the Control of *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White) Chitwood on Sugerbeet. Journal of Biological Control 21(2): 211-215.

Khatamidoost Z, Jamali S, Moradi M, Saberi-Riseh R (2015) Effect of Iranian strains of *Pseudomonas* spp. on the control of root-knot nematodes on Pistachios. Biocontrol Science and Technology 25(3): 291-301.

Kloepper JW, Leong J, Teintze M, Schroth MN (1980) Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. Nature 286(5776): 885-886.

Kloepper JW, Ryu CM, Zhang S (2004) Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. Phytopathology 94(11): 1259-1266.

Korayem AM, El-Bassiouny HMS, El-Monem AAA, Mohamed MMM (2012) Physiological and biochemical changes in different sugar beet genotypes infected with root-knot nematode. Acta Physiologiae Plantarum 34(5): 1847-1861.

Lian LH, Tian BY, Xiong R, Zhu MZ, Xu J, Zhang KQ (2007) Proteases from *Bacillus*: a new insight into the mechanism of action for rhizobacterial suppression of nematode populations. Letters in Applied Microbiology 45(3): 262-269.

Madani M, Akhiani A, Damadzadeh M, Kheiri A (2012) Resistance evaluation of the pistachio rootstocks to *Meloidogyne* species in Iran. Journal of Applied Horticulture 14(2): 134-138.

Manter DK, Delgado JA, Holm DG, Stong RA (2010) Pyrosequencing reveals a highly diverse and cultivar-specific bacterial endophyte community in potato roots. Microbial Ecology 60(1): 157-166.

Ogawa JM, English H (1991) Diseases of temperate zone tree fruit and nut crop. UCANR Publications, USA.

Oka Y, Chet I, Spiegel Y (1993) Control of the root knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Bacillus cereus*. Biocontrol Science and Technology 3(2): 115-126.

Padgham JL, Sikora RA (2007) Biological control potential and modes of action of *Bacillus megaterium* against *Meloidogyne graminicola* on rice. Crop Protection 26(7): 971-977.

Pillay VK, Nowak J (1997) Inoculum density, temperature, and genotype effects on in vitro growth promotion and epiphytic and endophytic colonization of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings inoculated with a pseudomonad bacterium. Canadian Journal of Microbiology 43(4): 354-361.

Poi SC, Kabi MC (1979) Effect of *Azotobacter* inoculation on the growth and yield of jute and wheat. Indian Journal of Agricultural Sciences 49(6): 478-480.

Rokhzadi A, Asgharzadeh A, Darvish F, Nour-Mohammadi G, Majidi E (2008). Influence of plant growth-promoting rhizobacteria on dry matter accumulation and yield of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under field conditions. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science 3(2): 253-257.

Siddiqui ZA, Mahmood I (2001) Effects of rhizobacteria and root symbionts on the reproduction of *Meloidogyne javanica* and growth of chickpea. Bioresource Technology 79(1): 41-45.

Siddiqui IA, Shaukat SS (2002) Rhizobacteria-Mediated induction of systemic resistance (ISR) in tomato against *Meloidogyne javanica*. Journal of Phytopathology 150(8-9): 469-473.

Siddiqui IA, Haas D, Heeb S (2005) Extracellular protease of *Pseudomonas fluorescens* CHA0, a biocontrol factor with activity against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Applied and Environmental Microbiology 71(9): 5646-5649.

Siddiqui ZA, Baghel G, Akhtar MS (2007) Biocontrol o*f Meloidogyne javanica* by rhizobium and plant growth-promoting rhizobacteria on lentil. World Journal of Microbiology and Biotechnology 23(3): 435-441.

Siddiqui ZA, Akhtar MS (2009) Effects of antagonistic fungi, plant growth-promoting rhizobacteria, and arbuscular mycorrhizal fungi alone and in combination on the reproduction of *Meloidogyne incognita* and growth of tomato. Journal of General Plant Pathology 75(2): 144-153.

Viaene N, Coyne DL, Kerry BR, Perry RN, Moens M (2006) Biological and cultural management, *In*: Perry RN, Moens N (ed.), Plant nematology. C.A.B International, UK. PP. 346-369.

Vovlas N, Grammatikaki G, Sonnino A (1994) Response of another culture-derived diploid lines of potato to the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Nematologia Mediterranea 22(2): 237-40.

Walters DR, Ratsep J, Havis ND (2013) Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future. Journal of Experimental Botany 64(5): 1263-1280.

Yildirim E, Taylor AG, Spittler TD (2006) Ameliorative effects of biological treatments on growth of squash plants under salt stress. Scientia Horticulturae 111(1): 1-6.