

بررسی اثر فرمولاسیون‌های مختلف تریکودرمای جهش یافته با پرتوی گاما بر روی شاخص‌های

مورفولوژی سویا

سهیل عروج‌نیا^۱، داوود حبیبی^{۲*}، سمیرا شهبازی^۳، فرزاد پاک‌نژاد^۴ و محمدنبی ایلکایی^۵

(۱) دانشجوی دکتری گروه زراعت، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.

(۲) ۴ و ۵) دانشیار گروه زراعت، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.

(۳) استادیار پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی، کرج، ایران.

*نویسنده مسئول: dhabibi@kiau.ac.ir

این مقاله برگرفته از رساله دکتری می‌باشد.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۱۰

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۰۴

چکیده

به منظور بررسی کنترل زیست‌محیطی بیماری پوسیدگی ذغالی سویا با استفاده از فرمولاسیون جهش یافته تریکودرما هارزیانوم با پرتو گاما آزمایش‌های مزرعه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب آماری طرح بلوک کاملاً تصادفی برای صفات مورفولوژی در سال‌های ۹۸-۱۳۹۷ در مزرعه‌ای واقع در اسلامشهر اجرا شد. آزمایش دارای ۱۲ تیمار شامل شاهد، استفاده از قارچ‌کش بیولوژیک تجاری تریکودرمین، سویا و تلقیح قارچ‌های موتانت و غیر موتانت تریکودرما به صورت پودری و گرانول بود. نتایج نشان داد که اثر تیمارها برای تمامی صفات مورفولوژی گیاه سویا معنی‌دار می‌باشد. استفاده از تیمارهای قارچ تریکودرما باعث افزایش میزان کمی صفات مورفولوژی مانند عملکرد دانه، وزن خشک کل، تعداد غلاف در بوته، تعداد شاخه‌های فرعی، ارتفاع بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن هزار دانه، تعداد دانه در بوته، شاخص برداشت، میزان پروتئین و میزان روغن شدند، به نحوی که بیشترین میانگین عملکرد دانه به ترتیب متعلق به تیمارهای تریکودرمای موتانت گرانول و تریکودرمای موتانت پودری با میانگین‌های ۳۵۳۱/۲۵ و ۳۵۲۷/۵ کیلوگرم در هکتار بود. همچنین نتایج نشان داد که برهم‌کنش فرمولاسیون و پاتوزن در تعداد غلاف در بوته در تیمارهای تریکودرمای موتانت گرانول و تریکودرمای موتانت پودری با پاتوزن با میزان ۴۷ غلاف در از بالاترین میزان برخوردار بودند.

واژه‌های کلیدی: کنترل زیستی، پوسیدگی ذغالی، سویا، تریکودرمای جهش یافته و موتانت.

مقدمه

سویا^۱ به تعداد زیادی از عوامل بیماری‌زا حساس بوده و بیشترین خسارت به آن از طریق بیمارگرهایی وارد می‌شود که گیاهچه و ریشه را مورد هدف قرار می‌دهند، یکی از این عوامل بیماری‌زا، قارچ *Macrophomina (Tassi) Goid* که عامل پوسیدگی ذغالی از جمله بیمارگرهای خاکزاد می‌باشد و از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای گیاهان مختلف در مناطق گرم است (Jana et al., 2003). کنترل بیولوژیکی استفاده از ارگانسیم‌های مفید یا تولیدات آن‌ها را شامل شده و منتج به کاهش اثرات منفی بیمارگرهای گیاهی می‌گردد (Vinale et al., 2008). به دلیل خاکزی بودن قارچ بیمارگر و توان بالای ساپروفیتی آن در خاک، کنترل آن به راحتی امکان‌پذیر نمی‌باشد و قارچ‌کش‌ها نیز کارایی چندانی در کنترل بیماری ندارند (Mengistu et al., 2011). بنابراین استفاده از روش کنترل بیولوژیک مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته و نتایج مثبتی نیز به همراه داشته است (Gajera et al., 2012; Gupta et al., 2012). نتیجه یک تحقیق نشان داد که گونه‌های مختلف تریکودرما تمام قارچ‌های بیماری‌زایی بررسی شده در آزمایشات مختلف را کنترل می‌نمایند (Yedidia et al., 2001). Singh و همکاران (۲۰۰۷) تراکم و بقای *T. harzianum* روی چند سوبسترای مختلف شامل کاکل ذرت، کمپوست، برگ‌های چای، بذر سورگوم، سیوس گندم و سیوس گندم - خاک را مورد بررسی قرار دادند. نتایج کار آن‌ها نشان داد که به‌کارگیری این فرمولاسیون‌ها به‌طور معنی‌داری باعث کاهش پژمردگی در لوبیا و پوسیدگی طوقه در بادام زمینی می‌شود. Haggag (۲۰۰۲) بیان کرد که موتانت‌ها در مقایسه با نژاد والدینی، میزان بالاتری از پرولین و هیدروکسی پرولین، سدیم و ترکیبات فنولی دارند. هم‌چنین نتایج تحقیق این پژوهشگران نشان داد که موتانت‌های مذکور متابولیت‌های فعال مانند کیتینازها، سلولازها، بتاگالاکتوزیداز و هم‌چنین تعدادی آنتی بیوتیک‌ها مانند تریکودرمین، گلیوتوکسین و گلیوویرین تولید می‌کنند و به‌طور عمده میزان بروز بیماری را کم می‌کنند. این تحقیق به منظور آنتی‌بیوتیک را راه‌اندازی کرده باشد. بررسی کارایی چند فرمولاسیون تریکودرمای جهش یافته با پرتوگاما در کنترل زیستی پوسیدگی ماکروفومینایی سویا انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر فرمولاسیون‌های مختلف تریکودرمای جهش یافته با پرتوی گاما بر روی شاخص‌های مورفولوژی سویا آزمایشات مزرعه‌ای به‌صورت فاکتوریل در قالب آماری طرح بلوک کاملاً تصادفی در چهار تکرار برای صفات مورفولوژی در سال‌های ۹۸-۱۳۹۷ در مزرعه‌ای واقع در اسلامشهر اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل ۱- سویا (شاهد) ۲- سویا + فرمولاسیون پودر قابل اختلاط با خاک جدایه موتانت ۳- سویا + فرمولاسیون گرانول جدایه والد ۴- سویای پوشش شده با جدایه والد ۵- سویای پوشش شده با جدایه موتانت ۶- سویا + ماکروفومینا فائولینا + فرمولاسیون پودر جدایه والد ۷-

1- *Glycine max*

سویا + ماکروفومینا فازئولینا + فرمولاسیون پودر جدایه موتانت ۸- سویا + ماکروفومینا فازئولینا + فرمولاسیون گرانول جدایه موتانت ۹- سویای پوشش شده با جدایه والد + ماکروفومینا فازئولینا ۱۰- سویای پوشش شده با جدایه موتانت + ماکروفومینا فازئولینا (پاتوژن) ۱۱- سویا + ماکروفومینا فازئولینا + فرمولاسیون تجاری تریکودرما ۱۲- سویا + ماکروفومینا فازئولینا + قارچ کش شیمیایی بود. به منظور دستیابی به جدایه‌های پر آزار و غالب، جداسازی *M. phaseolina* عامل بیمارگر، نمونه برداری از خاک مزارع آلوده سویا انجام و قارچ بیمارگر شناسایی و خالص سازی شد. از مزارع دارای آلودگی اندمیک از پنج استان خوزستان، قزوین، البرز، خراسان رضوی و تهران نمونه برداری شد و جدایه‌های قارچ تریکودرما بر روی محیط انتخابی جداسازی، خالص سازی و شناسایی شدند. پنج گونه قارچ *T. koningii*, *T. atroviride*, *T. viride*, *T. virens*, *Trichoderma harzianum* با استفاده از چندین بیمارگر قارچی خاکزاد عمده (*Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium ultimum*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotium*) در مقیاس آزمایشگاهی با آزمون‌های کشت متقابل و مواد فرار و متابولیت‌های ثانویه بررسی و گونه غالب از نظر توان بیوکنترل برای هر بیمارگر مشخص شد. عملیات دزیابی بر روی سوسپانسیون اسپور گونه‌های برتر انجام و ۲۵۰ گری مشخص گردید. عملیات پرتو دهی با دز بهینه برای هر پنج گونه (۵۰۰ اسپور پرتو دیده از هر گونه) انجام و بر اساس واکنش‌های متعدد و ثبات صفات موفولوژیک، جدایه‌های برتر از نظر سرعت رشد و کلنی زاسیون و توانایی تکثیر (میزان اسپوردهی) و سرعت جوانه زنی اسپور انتخاب شدند. از بین این موتانت‌های منتخب با استفاده از آزمون کشت متقابل با بیمارگر، ۲۰ موتانت برتر کاندید برای تولید سم بیولوژیک از هرگونه انتخاب گردید. این موتانت‌ها با استفاده از دو نشانگر مولکولی STS و RAPD مورد بررسی قرار گرفته و پروفایل پروتئینی و فعالیت آنزیم‌های (موثر بر فعالیت آنتاگونیسم) کیتینولیتیک و سلولیتیک آن‌ها بررسی و جدایه‌هایی با قدرت آنتاگونیستی و تولید آنزیمی بالاتر از والد مادری خود انتخاب شدند. سپس قدرت بیوکنترل کلیه موتانت‌های منتخب در فاز آزمایشگاهی، در شرایط گلخانه‌ای بر روی میزبان‌های اختصاصی هر یک از بیمارگرهای گیاهی، در دو سال متوالی مورد بررسی قرار گرفت. سپس از انواع ضایعات کشاورزی به عنوان سوبسترا برای کشت بستر جامد این موتانت‌های برگزیده استفاده شد تا محیط بهینه و شرایط مناسب رشد و تولید اسپور موتانت مشخص شود. پس از بررسی میزان کنترل کنندگی فرمولاسیون‌ها در گلخانه، انتخاب فرمولاسیون برتر انجام شد. صفات مورد اندازه‌گیری شامل عملکرد دانه، وزن خشک کل، تعداد غلاف در بوته، شاخص برداشت، ارتفاع بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن هزار دانه، تعداد دانه در بوته، میزان پروتئین و میزان روغن بود. آنالیز آماری داده‌ها از طریق نرم‌افزار SPSS و مقایسه میانگین داده‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام و سپس شکل‌ها از طریق نرم‌افزار Excel رسم شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر اصلی بلوک بر وزن خشک کل با سطح احتمال یک درصد و برای صفات تعداد غلاف در بوته و تعداد دانه در بوته با سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. نتایج تجزیه واریانس نشان دهنده این مطلب بود که اثر اصلی فرمولاسیون‌های مختلف تریکودرما بر تمام صفات عملکرد دانه، وزن خشک کل، تعداد غلاف در بوته، شاخص برداشت، تعداد شاخه فرعی، ارتفاع بوته، تعداد دانه در غلاف، وزن هزار دانه، پروتئین، روغن، تعداد دانه در بوته با سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. نتایج تجزیه واریانس هم‌چنین نشان داد که اثر اصلی پاتوزن بر تمامی صفات مورد مطالعه با سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

عملکرد دانه

نتایج مقایسه میانگین اثرهای اصلی تیمارهای فرمولاسیون بر عملکرد دانه مربوط به تیمار گرانول تریکودرما موتانت (GM) با میانگین ۳۵۳۱/۲۵ کیلوگرم در هکتار که با تیمار پودر تریکودرما موتانت (PM) در یک گروه آماری بودند و کمترین میانگین مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۲۶۶۲/۵ کیلوگرم در هکتار بود (شکل ۱ و جدول ۲). Jayaraj و Radhakrishnan (۲۰۰۶)، از جهش یافته‌های مقاوم به کاربندازیم که تحت نور فرابنفش جهش یافته بودند همراه با آفت‌کش برای تیمار گیاه کتان استفاده کردند که منجر به افزایش عملکرد گیاه کتان و وقوع کمتر بیماری مرگ گیاهچه ناشی از *R. solani* هم تحت شرایط مزرعه و شرایط گلخانه شد.

نتایج مقایسه میانگین اثرهای اصلی تیمارهای پاتوزن بر عملکرد دانه مربوط به تیمار عدم حضور پاتوزن با میانگین ۳۲۰۸/۳۳ کیلوگرم در هکتار و کمترین میانگین مربوط به تیمار حضور پاتوزن با میانگین ۳۰۶۳/۳۳ کیلوگرم در هکتار بود (شکل ۲ و جدول ۳). پوسیدگی ذغالی یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های سویا می‌باشد که در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری و نیمه گرمسیری با آب و هوای نیمه خشک، خسارت قابل توجهی را به این محصول وارد می‌سازد. تحت شرایط مساعد این قارچ سبب بیماری‌های بسیاری از جمله مرگ گیاهچه، بلایت گیاهچه، پوسیدگی طوقه، پوسیدگی ساقه، پوسیدگی ذغالی و پوسیدگی ریشه در بسیاری از محصولات مهم اقتصادی می‌گردد (Babu et al., 2007). بهبود فعالیت میکروارگانسیم‌های خاک و خصوصیات رشدی گیاهانی از جمله زیره (Haggag and Abo-sedra, 2005)، اسفناج (Mottaghian et al., 2009)، نخود فرنگی (Kukuk et al., 2007)، سویا (Yazdani et al., 2008) و گندم (Shahsavari et al., 2010) در تیمارها با گونه‌های مختلف قارچ تریکودرما گزارش شده است. افزودن جدایه‌های جهش یافته تریکودرما با پرتوی گاما روی گیاه پیاز (Haggag, 2002) و برنج (Cumagun, 2012) نه تنها اثر نام مطلوب نداشت، بلکه بر مقاومت به تنش‌هایی از جمله شوری و خشکی نیز افزود.

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر فرمولاسیون‌های مختلف تریکودرما در حضور یا عدم حضور پاتوژن

منابع تغییرات	درجه آزادی	عملکرد دانه	وزن خشک کل	تعداد غلاف در بوته	ارتفاع بوته	شاخص برداشت	تعداد دانه در غلاف	وزن هزار دانه	پروتئین	روغن
بلوک	۳	۱۴۶۸۸/۸۸۹ns	۶۸۰۹۶/۵۲۸**	۲/۳۰۵۵۵۶*	۲/۳۸۸۸۸۹ns	۰/۰۰۰۱۵۷ns	۰/۱۸۷۵۰۰ns	۲۸/۲۲۲۲۲ns	۱۲۸۳/۳۳۳ns	۷۳۵۷/۶۳۹ns
فرمولاسیون	۵	۹۳۳۷۰۸/۳۳**	۱۳۷۰۵۳۲/۸۳**	۴۰۰/۹۵**	۷۶۴/۴۳**	۰/۰۰۴**	۰/۸۳**	۶۴۸/۴۸**	۹۸۷۴۳۵/۰۰**	۲۵۱۹۰۳/۷۵**
پاتوژن	۱	۲۵۲۳۰۰/۰۰**	۲۵۶۶۸/۷۵**	۱۰۲/۰۸**	۳۹۶/۷۵**	۰/۰۰۱**	۷/۵۲**	۴۸۱/۳۳**	۱۲۴۰۳۳/۳۳**	۱۰۹۲۵۲/۰۸**
فرمولاسیون* پاتوژن	۱	۱۲۲۵/۰۰ns	۱۶۱۸/۷۵ns	۴/۶۸**	۵/۰۵ns	۰/۰۰۱ns	۰/۲۷ns	۲/۱۸ns	۱۹۱۸/۳۳ns	۱۲۰۷/۰۸ns
خطا	۳۳	۵۹۲۵/۲۵۳	۱۳۶۹۱/۹۸۰	۰/۷۹۰۰۴	۴/۹۷۹۷۹۸	۰/۰۰۱۰۷۶۴	۰/۱۸۷۵۰۰	۱۴/۱۹۱۹۱۹	۴۵۲۲/۲۲۷	۲۶۴۲/۴۸۷
ضریب تغییرات(درصد)		۲/۴۵	۱/۴۷	۲/۵۶	۲/۹۰	۲/۶۱	۱۶/۸۹	۲/۸۵	۴/۵۳	۵/۶۲

ns، * و ** به ترتیب نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

جدول ۲: مقایسه میانگین اثر اصلی فرمولاسیون‌های مختلف تریکودرما بر صفات مورد بررسی در سویا

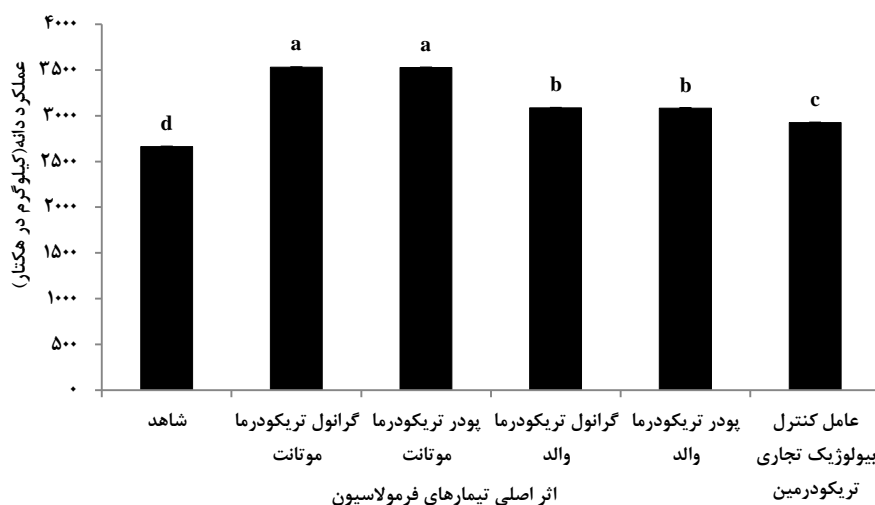
تیمار فرمولاسیون تریکودرما	عملکرد دانه (کیلوگرم بر هکتار)	وزن خشک کل (کیلوگرم بر هکتار)	تعداد غلاف در بوته	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	شاخص برداشت (درصد)	تعداد دانه در غلاف	وزن هزار دانه (گرم)	پروتئین (گرم بر کیلوگرم)	روغن (گرم بر کیلوگرم)
شاهد	۲۶۶۲/۵۰ d	۷۳۰۷/۵۰ e	۲۵/۰۰ f	۶۳/۲۵ d	۳۶/۵۰ c	۲/۳۷ c	۱۲۲/۸۷ e	۸۲۱/۲۵ e	۷۰۲/۷۵ e
گرانول تریکودرما موتانت	۳۵۳۱/۲۵ a	۸۳۹۲/۵۰ a	۴۴/۰۰ a	۸۷/۸۷ a	۴۲/۱۲ a	۳/۰۰ a	۱۴۶/۸۷ a	۱۷۶/۰۰ a	۱۱۰۶/۲۵ b
پودر تریکودرما موتانت	۳۵۲۷/۵۰ a	۸۱۹۳/۷۵ b	۳۹/۱۲ b	۸۷/۷۵ a	۴۳/۱۲ a	۲/۸۷ ab	۱۴۵/۲۵ a	۱۶۸۱/۲۵ b	۱۰۸۰/۰۰ b
گرانول تریکودرما والد	۳۰۸۷/۵۰ b	۸۰۰۰/۰۰ c	۳۵/۱۲ d	۷۶/۶۲ b	۳۸/۷۵ b	۲/۵۰ bc	۱۴۱/۰۰ b	۱۶۷۷/۵۰ b	۹۹۱/۲۵ c
پودر تریکودرما والد	۳۰۸۱/۲۵ b	۸۰۶۵/۰۰ bc	۳۶/۶۲ c	۶۷/۳۷ b	۳۸/۳۷ b	۲/۵۰ bc	۱۳۶/۵۰ c	۱۵۹۰/۰۰ c	۱۱۶۲/۵۰ a
عامل کنترل بیولوژیک تجاری	۲۹۲۵/۰۰ c	۷۵۲۵/۰۰ d	۲۷/۸۷ e	۶۹/۶۲ c	۳۹/۰۰ b	۲/۱۲ c	۱۳۲/۰۰ d	۱۳۶۵/۰۰ d	۸۳۲/۵۰ d

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف بین تیمارها است.

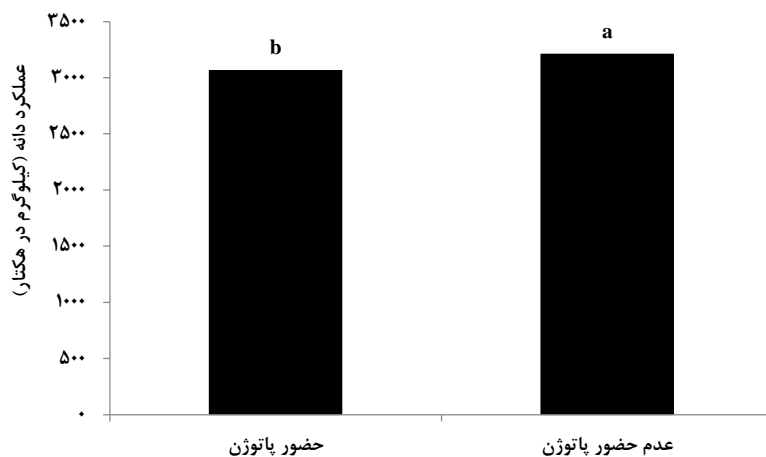
جدول ۳: مقایسه میانگین اثر اصلی پاتوژن بر صفات مورد بررسی در سویا

پاتوژن	عملکرد دانه (کیلوگرم بر هکتار)	وزن خشک کل (کیلوگرم بر هکتار)	تعداد غلاف در بوته	ارتفاع بوته (سانتی‌متر)	شاخص برداشت (درصد)	تعداد دانه در غلاف	وزن هزار دانه (گرم)	پروتئین (گرم بر کیلوگرم)	روغن (گرم بر کیلوگرم)
حضور	۳۰۶۲/۳۳ b	۷۸۴۰/۸۳ b	۳۳/۱۶ b	۷۴/۰۴ b	۳۹/۱۶ b	۲/۱۶ b	۱۳۴/۲۵ b	۱۴۳۱/۶۷ b	۹۳۱/۶۷ b
عدم حضور	۳۲۰۸/۳۳ a	۷۹۸۷/۰۸ a	۳۶/۰۸ a	۷۹/۷۹ a	۴۰/۱۲ a	۲/۹۵ a	۱۴۰/۵۸ a	۱۵۲۳/۳۳ a	۱۰۲۷/۰۸ a

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف بین تیمارها است.



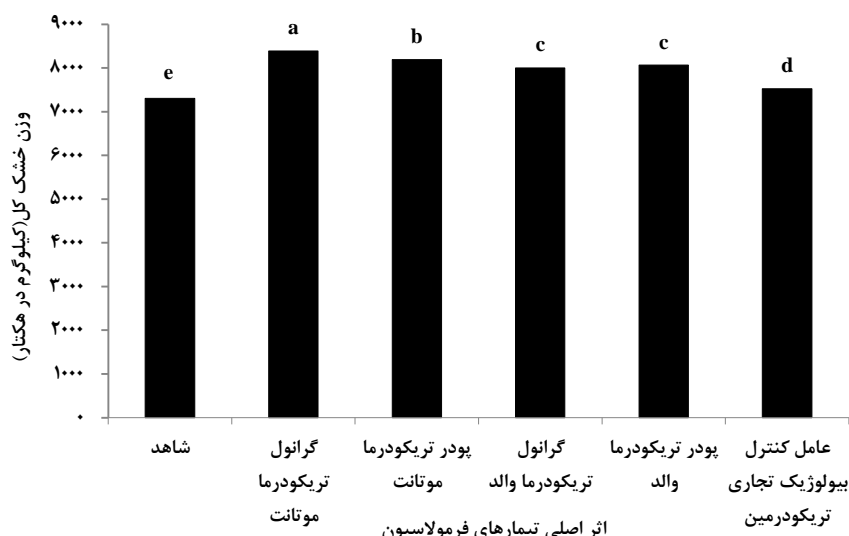
شکل ۱: مقایسه میانگین عملکرد تولیدی در تیمارهای مختلف سویا



شکل ۲: اثر اصلی تیمارهای پاتوزن بر عملکرد دانه

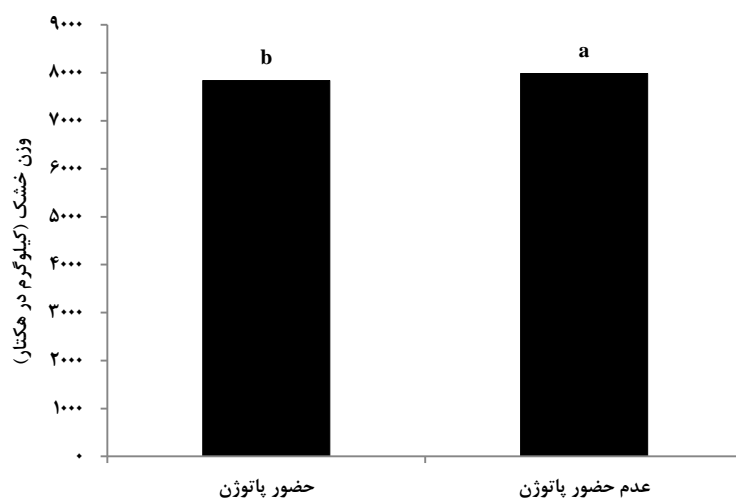
وزن خشک کل

نتایج مقایسه میانگین اثرهای اصلی تیمارهای فرمولاسیون بر میزان وزن خشک کل مربوط به تیمار گرانول تریکودرما موتانت با میانگین ۸۳۹۲/۵۰ کیلوگرم در هکتار و کمترین میانگین مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۷۳۰۷/۵۰ کیلوگرم در هکتار بود (شکل ۳ و جدول ۲). Elad و همکاران (۱۹۸۰) گزارش کردند اینوکولوم جدایی‌ای از *T. harzianum* روی کاهش و کلش گندم افزوده شده به خاک به‌طور معنی‌داری از وقوع بیماری‌های ریشه در لوبیا (با عامل‌های *S. R. solani* یا هر دو) جلوگیری می‌کند. هم‌چنین اینوکولوم تریکودرما روی کاه و کلش گندم در خاک‌های سالم (غیر آلوده به عامل بیماری) باعث افزایش رشد گیاه می‌شود. استفاده از فرمولاسیون‌های جدید توانسته با مقابله با عامل بیماری‌زاد نقش مهمی در افزایش وزن خشک کل داشته باشد (باغبانی مهماندار و همکاران، ۱۳۹۶).



شکل ۳: اثر اصلی تیمارهای فرمولاسیون بر وزن خشک کل

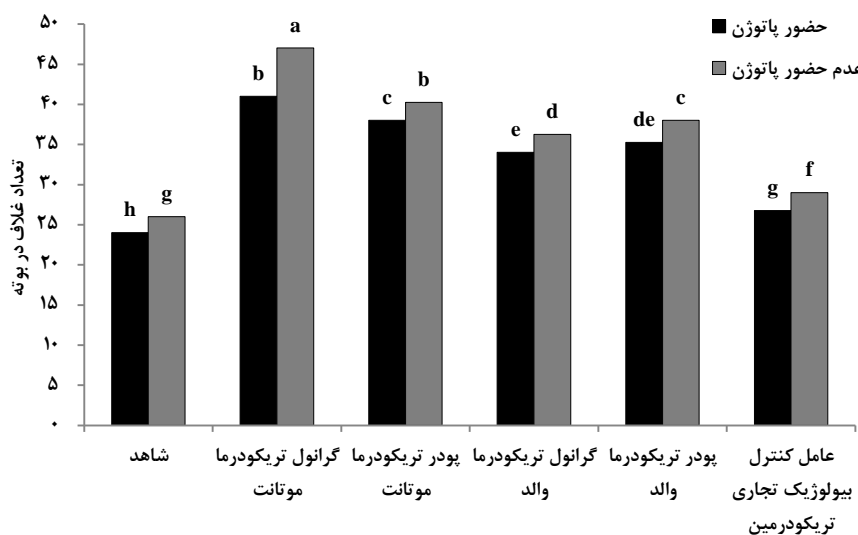
نتایج مقایسه میانگین اثرهای اصلی تیمارهای پاتوزن بر وزن خشک کل مربوط به تیمار عدم حضور پاتوزن با میانگین ۷۹۸۷/۰۸ کیلوگرم در هکتار و کمترین میانگین مربوط به تیمار حضور پاتوزن با میانگین ۷۸۴۰/۸۳ کیلوگرم در هکتار بود (شکل ۴ و جدول ۳). نتایج مطالعه‌های مقایسه‌ای نشان داده است که پوسیدگی ذغالی وزن گیاه، حجم ریشه و وزن ریشه را بیش از ۵۰ درصد کاهش می‌دهد. خسارت وارده به سیستم ریشه‌ای در مرحله تشکیل غلاف و پر شدن دانه‌ها، همگامی که رقابت برای جذب آب و غذا بیشتر است، مشهودتر می‌باشد، زیرا گیاه بیمار سیستم ریشه‌ای کوتاه‌تری دارند و در نهایت دانه‌های تولید شده باریک و سبک بوده و به تعداد کمتری تشکیل می‌شوند (Dhingra and Sinclair, 1975; Lohda *et al.*, 2003). در حضور پاتوزن سیستم ایمنی سویا دچار مشکل شده با صرف انرژی جهت مقابله با پاتوزن ها میزان وزن خشک آن کاهش می‌یابد.



شکل ۴: اثر اصلی تیمارهای پاتوزن بر وزن خشک کل

تعداد غلاف در بوته

نتایج برهم کنش تیمارهای فرمولاسیون و پاتوژن بر تعداد غلاف در بوته نشان داد که بیشترین میانگین تعداد غلاف مربوط به تیمار گرانول تریکودرما موتانت در شرایط عدم حضور پاتوژن با میانگین ۴۷ و کمترین میانگین مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۲۴ بود (شکل ۵ و جدول ۴). گزارش شده است که جدایه‌های *Rhizobium* و *Bradyrhizobium sp.* *M. Phaseolina* علی‌ه *meliloti* آنتاگونیست می‌باشند و دارای ویژگی بالا برنده رشد گیاهی در بادام زمینی می‌باشد (Arora et al., 2001). در شرایط گلخانه‌ای *T. harzianum T-22* به دلیل اینکه آسیبی به مصرف کنندگان و پرورش دهندگان محصول نمی‌رساند و اثرهای آن در کنترل بیماری‌ها طولانی مدت است، به‌طور وسیع به‌منظور کنترل بیماری‌های مختلف به‌جای سموم مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد و از طرفی دیگر در مقایسه با موافعی که از سموم استفاده می‌شود، سبب افزایش رشد ریشه محصول می‌گردد (Bolar et al., 2001). افزایش رشد گیاه با حضور تریکودرما باعث افزایش تعداد غلاف و سپس پر کردن دانه این غلاف می‌شود که از اجزای مهم افزایش عملکرد در سویا می‌باشند. استفاده از فرمولاسیون تریکودرما با مبارزه با پاتوژن بیماری‌زا از کاهش شدید تعداد غلاف در بوته سویا در شرایط حضور پاتوژن جلوگیری می‌کند.

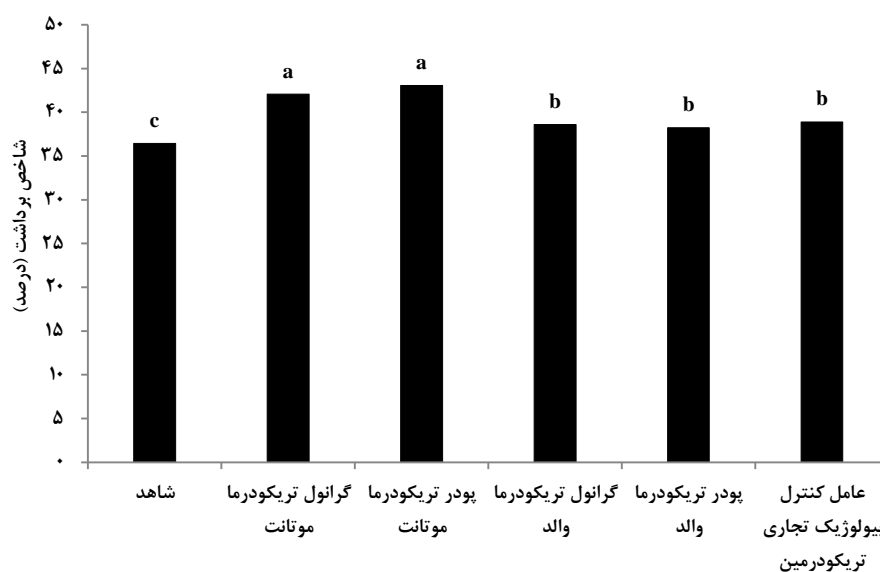


شکل ۵: برهم‌کنش تیمارهای فرمولاسیون و پاتوژن بر تعداد غلاف در بوته

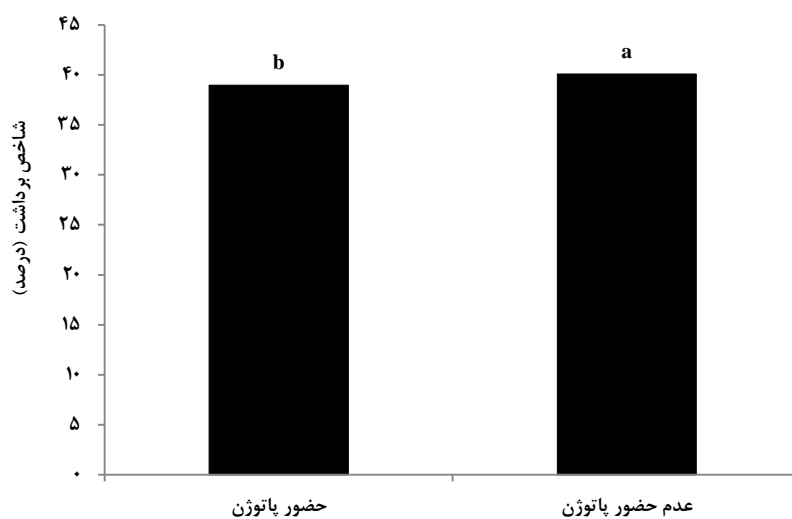
شاخص برداشت

نتایج مقایسه میانگین اثرهای اصلی تیمارهای فرمولاسیون بر شاخص برداشت مربوط به تیمار گرانول تریکودرما موتانت با میانگین ۴۳/۱۲ درصد که با تیمار پودر تریکودرما موتانت در یک گروه آماری بودند و کمترین میانگین مربوط به

تیمار شاهد با میانگین ۳۶/۵۰ درصد بود (شکل ۶ و جدول ۲). Fernandez و همکاران (۱۹۹۸) گندم و یولاف سیاه (پودر شده) تلقیح شده با تریکودرما را روی وقوع بیماری فوزاریوم خوشه گندم و دیگر گونه‌های فوزاریوم مورد بررسی قرار داد. تریکودرما در کاهش وقوع بیماری و کلونیزه کردن سوبسترا در گندم موثرتر از یولاف بود. تریکودرما با افزایش اجزای عملکرد باعث افزایش عملکرد و در نهایت شاخص برداشت در گیاه سویا می‌شود. نتایج مقایسه میانگین اثرهای اصلی تیمارهای پاتوژن بر شاخص برداشت مربوط به تیمار عدم حضور پاتوژن با میانگین ۴۰/۱۲ درصد و کمترین میانگین مربوط به تیمار حضور پاتوژن با میانگین ۳۹/۱۶ درصد بود (شکل ۷ و جدول ۳).



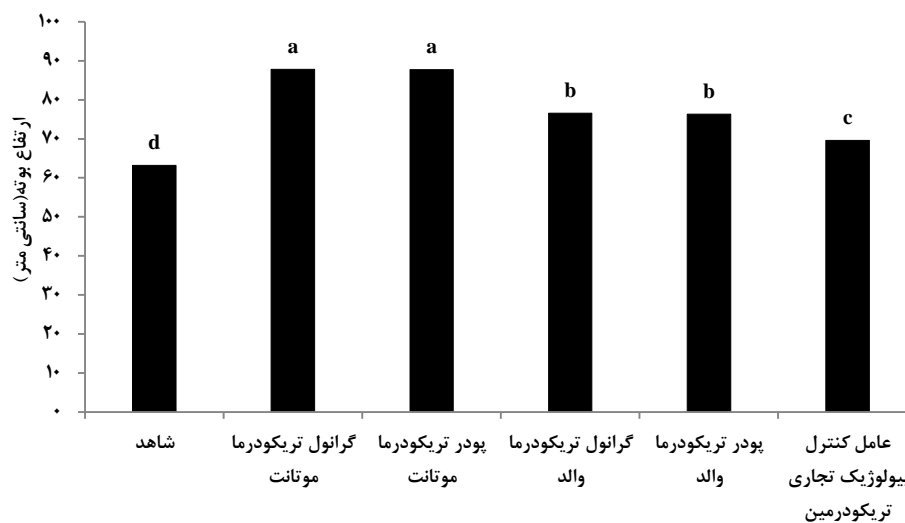
شکل ۶: اثر اصلی تیمارهای فرمولاسیون بر شاخص برداشت



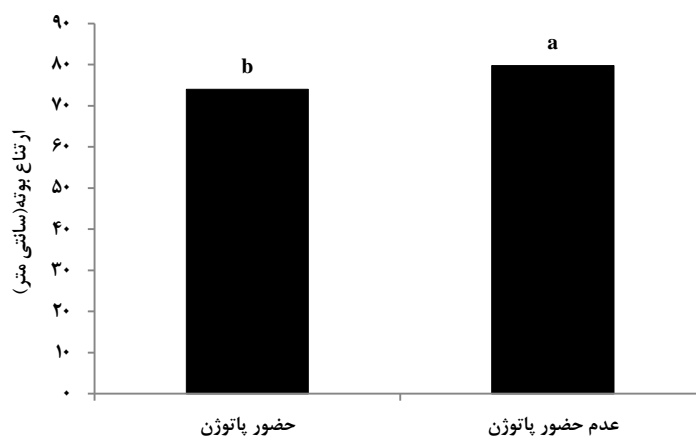
شکل ۷: اثر اصلی تیمارهای پاتوژن بر شاخص برداشت

ارتفاع بوته

نتایج مقایسه میانگین اثرهای اصلی تیمارهای فرمولاسیون بر ارتفاع بوته مربوط به تیمار گرانول تریکودرما موتانت با میانگین ۸۷/۸۷ سانتی‌متر که با تیمار پودر تریکودرما موتانت در یک گروه آماری بودند و کمترین میانگین مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۶۳/۲۵ سانتی‌متر بود (شکل ۸ و جدول ۲). *T. harziahum* به‌عنوان یک عامل بیوکنترل بالقوه علیه *M. phaseolina* پیشنهاد شده است (Kumar, 2013). در مطالعه‌ای، عوامل بیوکنترل *T. hamatum*، *T. virde*، *T. koningii* و *T. longiform* برای ارزیابی خواص آنتاگونیستی‌شان علیه *M. phaseolina* با استفاده از کشت متقابل مورد بررسی قرار گرفتند. همه عوامل بیوکنترل به‌کار گرفته شده به‌طور معنی‌داری رشد *M. phaseolina* را کاهش دادند. با افزایش رشد و تقسیم سلولی در گیاه در حضور تریکودرما ارتفاع گیاه نیز افزایش می‌یابد. نتایج مقایسه میانگین اثرهای اصلی تیمارهای پاتوژن بر ارتفاع بوته مربوط به تیمار عدم حضور پاتوژن با میانگین ۷۹/۷۹ سانتی‌متر و کمترین میانگین مربوط به تیمار حضور پاتوژن با میانگین ۷۴/۰۴ سانتی‌متر بود (شکل ۹ و جدول ۳).



شکل ۸: اثر اصلی تیمارهای فرمولاسیون بر ارتفاع بوته



شکل ۹: اثر اصلی تیمارهای پاتوژن بر ارتفاع بوته

تعداد دانه در غلاف

نتایج مقایسه میانگین اثرهای اصلی تیمارهای فرمولاسیون بر تعداد دانه در غلاف مربوط به تیمار گرانول تریکودرما موتانت با میانگین ۳ که با تیمار پودر تریکودرما موتانت در یک گروه آماری بودند و کمترین میانگین مربوط به تیمار تریکودرمین با میانگین ۲/۱۲ که با تیمار شاهد در یک گروه آماری بودند (شکل ۱۰ و جدول ۲). عامل کنترل بیولوژیک باشد (ساز و کار مایکوپارازیتی) که شامل برخورد فیزیکی و سنتز آنزیم‌های هیدرولیکی، ترکیبات سمی و یا تولید آنتی بیوتیک‌هایی می‌باشد که به‌طور سینرژیستی با فعالیت آنزیمی مشارکت دارند. گونه‌های *Trichoderma* حتی می‌توانند با اعمال اثرهای مثبت روی گیاهان موجب افزایش رشد و تحریک ساز و کارهای دفاعی گیاهان شوند (Mohiddin et al., 2010). با افزایش تعداد غلاف در حضور تریکودرما و با افزایش فتوسنتز جاری تعداد دانه‌ها نیز که اجزای مهم عملکرد هستند افزایش می‌یابد (محتشم امیری و همکاران، ۱۳۹۱). نتایج مقایسه میانگین اثرهای اصلی تیمارهای پاتوزن بر تعداد دانه در غلاف مربوط به تیمار عدم حضور پاتوزن با میانگین ۲/۹۵ و کمترین میانگین مربوط به تیمار حضور پاتوزن با میانگین ۲/۱۶ بود (شکل ۱۱ و جدول ۳).

وزن هزار دانه

نتایج مقایسه میانگین اثرهای اصلی تیمارهای فرمولاسیون بر وزن هزار دانه مربوط به تیمار گرانول تریکودرما موتانت با میانگین ۱۴۶/۸۷ گرم که با تیمار پودر تریکودرما موتانت در یک گروه آماری بودند و کمترین میانگین مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۱۲۲/۸۷ گرم بود (شکل ۱۲ و جدول ۲). Howell و Sipanovic (۱۹۸۳)، از پرتوتابی با اشعه فرابنفش برای ایجاد جهش یافته‌های *Gliocladium virens* استفاده کردند که این جهش یافته‌ها، افزایش تولید آنتی‌بیوتیک گلیووپیرین نشان دادند و در نتیجه کنترل بیولوژیک موثری از خود نشان دادند. با افزایش رشد در حضور فرمولاسیون‌های تریکودرما میزان تولید مواد فتوسنتزی نیز افزایش می‌یابد، در نتیجه تقسیم سلولی بیشتر دانه‌های درشت‌تر با وزن بیشتر در سویا تولید شد. نتایج مقایسه میانگین اثرهای اصلی تیمارهای پاتوزن بر وزن هزار دانه مربوط به تیمار عدم حضور پاتوزن با میانگین ۱۴۰/۵۸ گرم و کمترین میانگین مربوط به تیمار حضور پاتوزن با میانگین ۱۳۴/۲۵ گرم بود (شکل ۱۳ و جدول ۳).

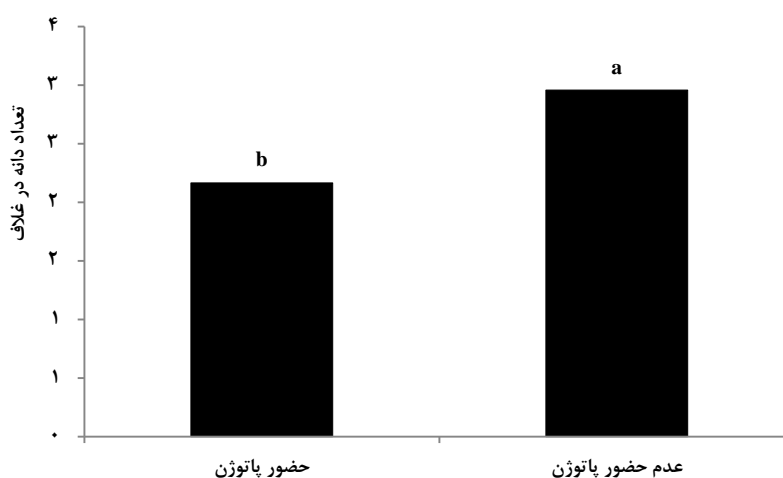
میزان پروتئین

نتایج مقایسه میانگین اثرهای اصلی تیمارهای فرمولاسیون بر میزان پروتئین مربوط به تیمار گرانول تریکودرما موتانت با میانگین ۱۷۶۰ گرم بر کیلوگرم و کمترین میانگین مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۸۲۱/۲۵ گرم بر کیلوگرم بود (شکل ۱۴ و جدول ۲). در تحقیق دیگری مشخص شد که فاکتورهای مسئول مقاومت به *M. phaseolina* در سویا، گیاهان

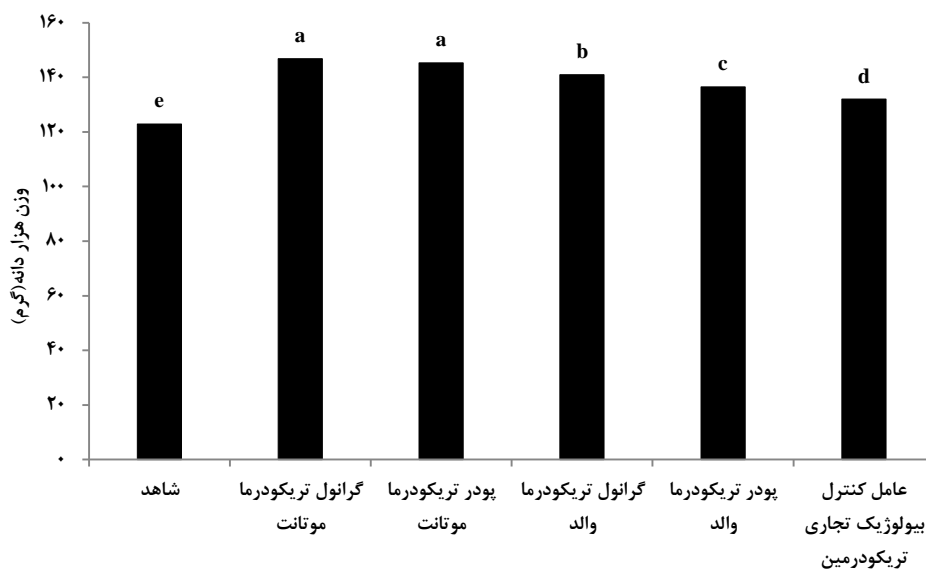
را در مقابل آلودگی محافظت نمی‌کنند. به نظر می‌رسد کاهش رشد بیمارگر در بافت کولتیوارهای مقاوم نسبت به کولتیوارهای حساس ممکن است در نتیجه آزاد شدن اسید آمینه پرولین و آسپاراژین باشد که منجر به کاهش سطح استرس در گیاه می‌شود (Persoon, 1794). استفاده از فرمولاسیون جدید باعث افزایش اسید آمینه‌هایی مانند پرولین در گیاه باشد (رضالو و همکاران، ۱۳۹۸). نتایج مقایسه میانگین اثرهای اصلی تیمارهای پاتوزن بر میزان پروتئین مربوط به تیمار عدم حضور پاتوزن با میانگین ۱۵۳۳/۳۳ گرم بر کیلوگرم و کمترین میانگین مربوط به تیمار حضور پاتوزن با میانگین ۱۴۳۱/۶۷ گرم بر کیلوگرم بود (شکل ۱۵ و جدول ۳).



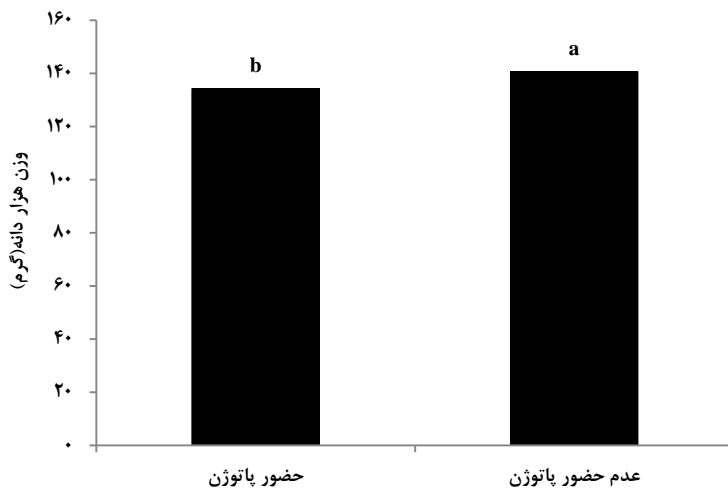
شکل ۱۰: اثر اصلی تیمارهای فرمولاسیون بر تعداد دانه در غلاف



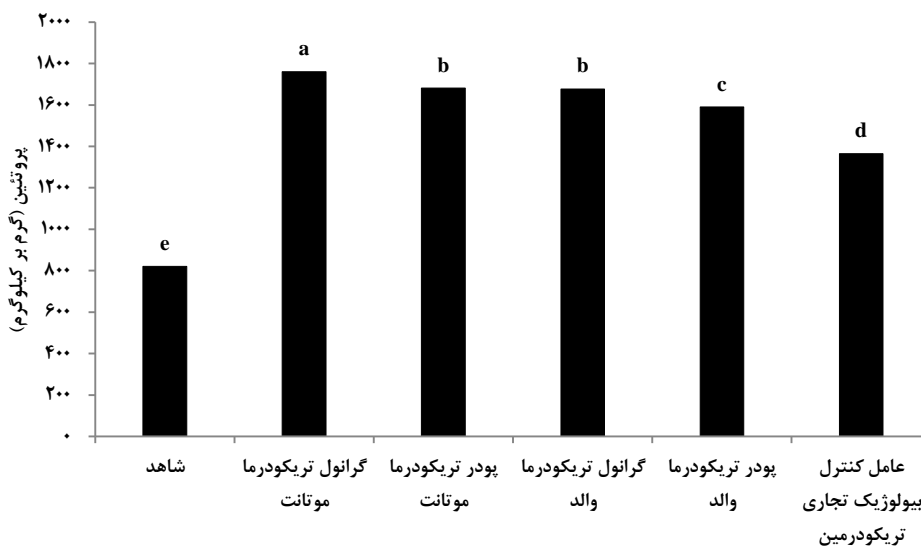
شکل ۱۱: اثر اصلی تیمارهای پاتوزن بر تعداد دانه در غلاف



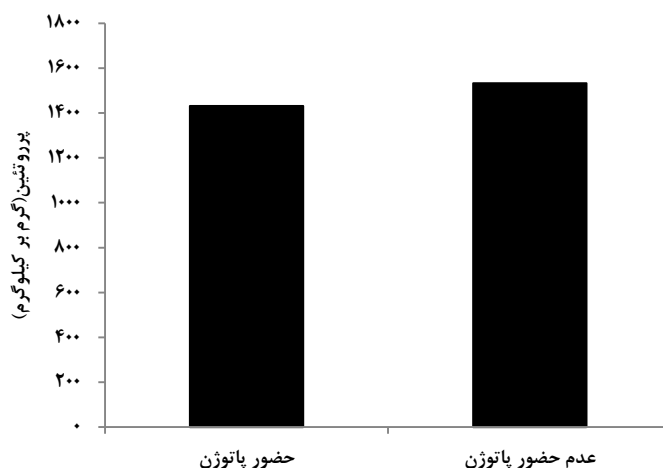
شکل ۱۲: اثر اصلی تیمارهای فرمولاسیون بر وزن هزار دانه



شکل ۱۳: اثر اصلی تیمارهای پاتوژن بر روی وزن هزار دانه



شکل ۱۴: اثر اصلی تیمارهای فرمولاسیون بر میزان پروتئین



شکل ۱۵: اثر اصلی تیمارهای پاتوزن بر میزان پروتئین

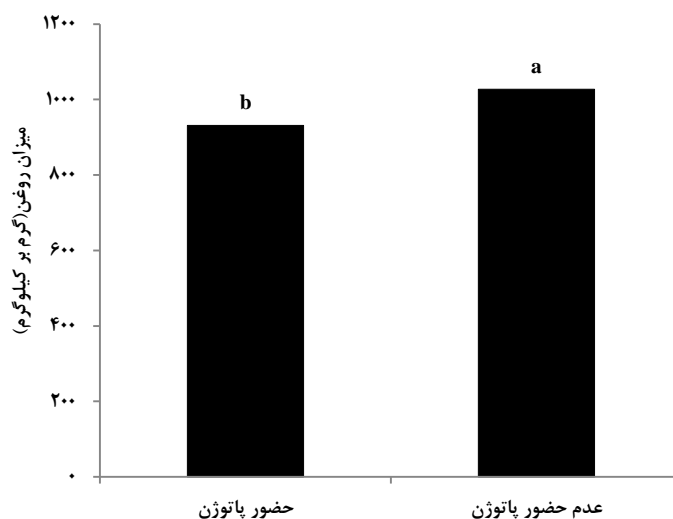
میزان روغن

نتایج مقایسه میانگین اثرهای اصلی تیمارهای فرمولاسیون بر میزان روغن مربوط به تیمار پودر تریکودرما والد با میانگین ۱۱۶۲/۵۰ گرم بر کیلوگرم و کمترین میانگین مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۷۰۳/۷۵ گرم بر کیلوگرم بود (شکل ۱۶ و جدول ۲). دانه سویا حاوی پروتئین، روغن، هیدرات کربن و عناصر معدنی می‌باشد. پروتئین و روغن که قسمت اعظم ارزش تجاری سویا را شامل می‌شود، حدود ۶۰ درصد دانه را تشکیل می‌دهند که به‌طور عمده در لپه‌ها قرار دارند. مقدار پروتئین و روغن در دانه به‌دلیل تغییرات آب و هوایی و اختلاف ژنتیکی به‌ترتیب بین ۳۰ الی ۴۰ و ۱۲ الی ۲۴ درصد متغیر است. پرتوتابی اشعه فرابنفش و آمیزش پروتوپلاستی استرین‌های گونه *T. harzianum* ثابت شده است که موجب پدید آمدن استرین‌هایی با توانایی آنتاگونیستی بهبود یافته و افزایش قدرت بیوکنترل علیه استرین‌ها تحت شرایط آزمایشگاه و گلخانه می‌شود (Muusa et al., 2007).



شکل ۱۶: اثر اصلی تیمارهای فرمولاسیون بر میزان روغن

استفاده از فرمولاسیون جدید تریکودرما با افزایش اجزای عملکرد و در نتیجه عملکرد، میزان روغن را در دانه افزایش دادند. نتایج مقایسه میانگین اثرهای اصلی تیمارهای پاتوژن بر میزان روغن مربوط به تیمار عدم حضور پاتوژن با میانگین ۱۰۲۷/۰۸ گرم بر کیلوگرم و کمترین میانگین مربوط به تیمار حضور پاتوژن با میانگین ۹۳۱/۶۷ گرم بر کیلوگرم بود (شکل ۱۷ و جدول ۳).



شکل ۱۷: اثر اصلی تیمارهای پاتوژن بر میزان روغن

نتیجه گیری

با توجه به تجزیه آماری انجام شده، از نظر شاخص‌های مورفولوژیکی گیاه همانند عملکرد دانه، وزن هزار دانه، وزن خشک کل، تعداد دانه در غلاف، تعداد دانه در بوته و همچنین میزان پروتئین و میزان روغن در تیمارهای گرانولی که دارای تریکودرمای موتانت می‌باشند از ارجحیت بالاتری نسبت به بذوری که به همراه پودر موتانت بوده‌اند، برخوردار هستند.

منابع

باغبانی مهماندار، ف.، اکرمی، م.، نصراله‌زاده اصل، و. و یوسفی، م. ۱۳۹۶. استفاده از قارچ آنتاگونیست *Trichoderma asperellum* جهت کنترل بیولوژیکی بیماری فوزاریومی نخود با عامل *Fusarium oxysporum* در شرایط گلخانه. سومین همایش ملی میکروبیولوژی کاربردی ایران. دانشگاه مازندران. بابل. ص ۱.

رضالو، ز.، شهبازی، س.، توحیدلو، ق. و عسکری، ح. ۱۳۹۷. تاثیر پرتو گاما بر ویژگی های مورفولوژیک و آنتاگونیستی قارچ تریکودرما. نشریه مطالعات محیط‌زیست، منابع طبیعی و توسعه پایدار. ۴ (۲): ۲۷-۱۹.

محتشم امیری، ا. داداشی، م. ر. و فرجی، ا. ۱۳۹۷. عوامل موثر بر وقوع عارضه اختلال در غلاف‌بندی سویا

(*Glycine max* L.) در گرگان. نشریه اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی. ۱۲ (۲): ۳۳۷-۳۵۴.

Arora, N. K., Kang, S. C. and Maheshwari, D. K. 2001. Isolation of siderophore-producing strains of *Rhizobium meliloti* and their biocontrol potential against *Macrophomina phaseolina* that causes charcoal rot of groundnut. *Current Science*. 81 (6): 673-677.

Babu, B.K., Saxena A.K., Srivastava, A.K. and Arora, D.K. 2007. Identification and detection of *Macrophomina phaseolina* by using species-specific oligo-nucleotide primers and probe. *Mycologia*. 99: 797-803.

Bolar, J.P., Norelli, J.L., Harman, G.E., Brown, S.K. and Aldwinckle, H.S. 2001. Synergistic activity of endochitinase and exochitinase from *Trichoderma atroviride* (*T. harzianum*) against the pathogenic fungus (*Venturia inaequalis*) in transgenic apple plants. *Transgenic Research*. 10 (6): 533-543.

Cumagun, C.J.R. 2012. Managing Plant Diseases and Promoting Sustainability and Productivity with *Trichoderma*: The Philippine Experience. *Journal of Agricultural Science and Technology*. 14: 699-714.

Dhingra, O.D. and Sinclair, J.B. 1975. Location of *Macrophomina phaseolina* on Soybean Plant related to culture characteristics and virulence. *Phytopathology*. 63: 934-936.

Elad, Y. 1996. Mechanisms involved in the biological control of *Botrytis cinerea* incited diseases. *European Journal of plant pathology*. 102: 719-732.

Elad, Y., Chet I. and Katan, J. 1980. *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*. 70(2): 119-121.

Fernandez, I.G., Lorito, M., Woo S.L., Colacci, C., Harman, G.E., Pintoro, J.A., Filippone, E., Muccifora S., Lawrence, C.B., Zoina, A., Tuzun, S. and Scala, F. 1998. Genes from myco-parasitic fungi as a source for improving plant resistance to fungal pathogens. *Proceeding of the National Academy of Sciences, USA*. 95: 7860- 7865.

Gajera, H.P., Bambharolia, R.P., Patel, S.V., Khatrani, T.J. and Goalkiya, B.A. 2012. Antagonism of *Trichoderma* spp. against *Macrophomina phaseolina*: Evaluation of coiling and cell wall degrading enzymatic activities. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*. 3: 149.

Gupta, G.K., Sharma, S.K. ad Ramteke, R. 2012. Biology, epidemiology and management of the pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with special reference to charcoal rot of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Journal of Phytopathology*. 160(4): 167-180.

Haggag, W. M. 2002. Induction of hyperproducing chitinase *Trichoderma* mutants for efficient biocontrol of *Botrytis cinerea* on tomato and cucumber plants growing in plastic houses. *Arab journal of biotechnology*. 5 (2): 151-164.

Haggag, W.M. and Abo-Sedra, S.A. 2005. Characteristics of three *Trichoderma* species in peanut haulms compost involved in biocontrol of cumin wilt disease. *International Journal Agriculture Biology*. 7(2): 222-229

Howell, C.R. and Stipanovic, R.D. 1983. Gliovirin, a new antibiotic from *Gliocladium virens*, and its role in the biological control of *Pythium ultimum*. *Canadian Journal of Microbiology*. 29: 321-324.

Kukuk, C., Kivanc, M., Kinaki, E. and Kinaci, G. 2007. Efficacy of *Trichoderma harzianum* (Riffaii) on inhabitation of ascochyta blight disease of chickpea. *Annals of Microbiology*. 57:665-668

Kumar, S. 2013. *Trichoderma*: a biological weapon for managing plant diseases and promoting sustainability. *International Journal of Agriculture Science and Medical veterinary*. 1(3): 106-121.

Jana, T., Sharma, T., Prasad, R. D and Arora, D. K, 2003. Molecular characterization of *Macrophomina phaseolina* and *Fusarium* species by a single primer RAPD technique. *Microbiological Research* 158: 249-257.

Jayaraj, J., Radhakrishnan, N. V and Velazhahan, R. 2006. Development of formulations of *Trichoderma harzianum* strain M1 for control of damping-off of tomato caused by *Pythium aphanidermatum*, *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 39:1, 1-8, DOI: 10.1080/03235400500094720

Lohda, S., Sharma, S.K., Mathur, B.K. and Aggarwal, R.K. 2003. Integration sub-lethal heating with Brassica amendments and summer irrigation for control of *Macrophomina phaseolina*. *Plant Soil*, 256: 423- 430.

Mengistu, A., Smith. J.R., Ray, J.D. and Bellaloui, N. 2011. Seasonal progress of charcoal rot and its impact on soybean productivity. *Plant Disease*. 95: 1159-1166.

Mohiddin, F.A., Khan, M.R., Khan, S.M. and Bhat, B.H. 2010. Why *Trichoderma* is Considered Super Hero (Super Fungus) Against the Evil Parasites?. *Plant Pathology Journal*. 9 (3): 92-102.

Mottaghian, A., Pirdashti, H., Bahmanyar, M.A., Shahsavari, A. and Hassanpour, R. 2009. Effect of three *Trichoderma* species and different amounts of enriched municipal waste compost on growth parameters in spinach (*Spinacia oleracea*). *Proceedings of 5th International Scientific Conference of Iran and Russia on Agricultural Development problems*. Saint Petersburg, Russia. 267-270.

Muusa, TA. and Rizk, MA. 2003. Impact of Gamma radiation stresses on control of sugarbeet pathogens (*R. solani* and *S. rolfsii*). *Pakistan Journal of Plant Pathology*. 2 (1): 10-20

Persoon, C.H. 1794. *Disposita methodica fungorum*. *Romer's News Mag. Bot.* 1: 63-128.

Singh, A., Srivastava, S. and Singh, H.B. 2007. Effect of substrates on growth and shelf life of *Trichoderma harzianum* and its use in biocontrol of diseases. *Bioresource Technology*. 98: 470-473.

Shahsavari, A., H. Pirdashti, A. Mottaghian and M.A. Tajikghanbari, 2010. Response of wheat (*Triticum aestivum* L.) growth parameters and yield to co-inoculation of farmyard manure, *Trichoderma* spp. And *pseudomonas* spp. *Journal of Agro Ecology*. 2 (3): 448-458

Vinale, F., Sivasitamparam, K., Ghisalberti. E.L, Marra, R., Woo, S.L. and Lorito, M. 2008. Trichoderma-plant-pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*. 40: 1-10.

Yazdani, M., Pirdashti, H. and Tajikghanbari, M.A. 2008. Effect of *Trichoderma* spp. and different organic manures on growth and development in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill.]. *Electron Journal of Crop Production*. 1(3): 65-82.

Yedidia, I., Srivastava, A.K., kapulnik, Y. and Chet, I. 2001. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant and soil*. 235 (2): 235-242.

Investigation the Effect of Different Formulations of Mutated Trichoderma with Gamma Ray on Soybean Morphological Indices

S. Orojnia¹, D. Habibi^{2*}, S. Shahbazi³, F. Paknejad⁴ and M.N. Ilkaee⁵

- 1) Ph.D. Student of Department of Agronomy, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.
2, 4 & 5) Associate Professor of Department of Agronomy, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.
3) Assistant Professor of Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Sciences and Technology Research Institute, Atomic Energy Organization, Karaj, Iran.

*Corresponding author: dhabibi@kiau.ac.ir

This article is taken from a Ph.D. dissertation.

Received date: 25.07.2020

Accepted date: 31.10.2020

Abstract

In order to investigate the environmental biological control of soybean charcoal rot disease by using the mutated formulation of *Trichoderma Harzyanum* with gamma ray, factorial field experiments in a completely randomized block design for morphological traits was performed in a farm located in Islamshahr in 2018-2019. The experiment consisted of 12 treatments including control, application of commercial biological fungicide of *Trichoderma*, soybean and inoculation of mutant and non-mutant *Trichoderma* fungi in powder and granules. The results showed that the effect of treatments was significant for all soybean morphological traits. The use of *Trichoderma* fungi treatments increased the quantitative amount of morphological traits such as grain yield, total dry weight, number of pods per plant, number of sub-branches, plant height, number of seeds per pod, one thousand seed weight, number of seeds per plant, harvest index, protein content and oil content, so that the highest average grain yield belonged to granular mutant *Trichoderma* and powder mutant *Trichoderma* treatments with averages of 3531.25 and 3527.5 kilogram per hectare, respectively. The results also showed that the interaction of formulation and pathogen in the number of pods per plant in the treatments of granular mutant *Trichoderma* and pathogenic powder mutant *Trichoderma* with 47 pods had the highest rate.

Keywords: Biological Control, Charcoal rot, Mutated *Trichoderma* and Mutant.