

کنترل بیولوژیکی بیماری فوزاریوم سنبله گندم ناشی از *Fusarium graminearum* با استفاده از سه گونه بومی تریکودرما در زمان‌های مختلف اسپورپاشی در شرایط مزرعه

*فاطمه باغانی^۱، کامران رهنما^۱، محمدعلی آقاچانی^۲ و محمدعلی دهقان^۱

^۱گروه گیاه‌پژوهشکی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

^۲مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گلستان

چکیده

فوزاریوم سنبله یکی از بیماری‌های مهم گندم در مناطق مرطوب و نیمه گرسنگی کشور محسوب می‌شود. استفاده از عوامل بیولوژیکی یکی از روش‌های مؤثر در کنترل این بیماری می‌باشد. در این پژوهش سه گونه بومی *T. virens* و *T. aroviridae* و *Trichoderma harzianum* به عنوان عوامل بیولوژیک در کنترل این بیماری در سه زمان مختلف اسپورپاشی مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین به‌منظور مقایسه بین میزان تأثیر کنترل عوامل آنتاگونیست با قارچکش‌های رایج منطقه از قارچکش پروپیکونازول (تیلت) استفاده شد. آزمایش بر روی دو رقم فلاحت و مغان به صورت آزمایش اسپیلت پلات-فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در شرایط مزرعه انجام شد. هنگامی که سنبله‌ها در مرحله گرده افشاری بودند اسپورپاشی‌ها در ۳ زمان مختلف که شامل T1 (اسپورپاشی ابتداء با تریکودرما با غلظت 3×10^7 بعد از دو روز اسپورپاشی با فوزاریوم با غلظت 3×10^5 ، T2 (اسپورپاشی همزمان تریکودرما و فوزاریوم) و T3 (اسپورپاشی ابتداء با فوزاریوم بعد از ۲ روز با تریکودرما) انجام گرفتند. سه روز بعد از آخرین اسپورپاشی فاکتورهای بیماری زایی که شامل درصد آلدگی و شدت آلدگی بودند اندازه‌گیری شدند. عملکرد دانه و وزن هزار دانه نیز بعد از برداشت محصول اندازه‌گیری شدند. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در رابطه با درصد و شدت آلدگی و وزن هزار دانه، تمامی تیمارها با تیمار شاهد با آلدگی مصنوعی اختلاف معنی داری داشتند و درصد و

* مسئول مکاتبه: fatemebaghani@yahoo.com

شدت آلودگی در آنها کمتر و وزن هزاردانه در آنها بیشتر از تیمار شاهد آلوده بود. همچنین نتایج نشان داد که، تیمار قارچکش با درصد آلودگی ۴۰/۳۳ درصد، شدت آلودگی ۷/۳۸ درصد، وزن هزاردانه ۳۲/۳ گرم و عملکرد دانه ۲۲۵/۳۳ گرم در مقایسه با تیمارهای آنتاگونیستی تریکودرما توانست نتایج قابل قابلتری را نشان دهد. در رابطه با زمانهای مختلف اسپورپاشی در ارتباط درصد و شدت آلودگی و عملکرد دانه، نتایج نشان داد که تیمارهایی که در زمان T1 استفاده شده بودند نتایج بهتری را در مقایسه با زمانهای T2 و زمان T3 نشان داد. در نتیجه زمان T1 به عنوان کارآمدترین زمان مصرف سوسپانسیون تریکودرما شناخته گردید. در رابطه با ارقام گندم نتایج حاکی از این بود که، بین دو رقم فلات و مغان در رابطه با درصد و شدت آلودگی و عملکرد دانه اختلاف معنی داری مشاهده شد و رقم مغان توانست نتایج بهتری را در مقایسه با رقم فلات نشان دهد.

واژه‌های کلیدی: فوزاریوم سنبله گندم، تریکودرما، پروپیکونازول، کترول بیولوژیک.

مقدمه

فوزاریوم سنبله یکی از عوامل محدود کننده تولید گندم در مناطق معتدل و نیمه گرمسیری بوده و در مناطقی که مرحله گلدهی و پرشدن دانه مواجه با هوای گرم و مريطوب باشد خسارت زیادی به دانه وارد می‌کند (گلزار و همکاران، ۱۹۹۸). این بیماری از سال‌ها پیش بطور پراکنده در ایران وجود داشته و یکی از بیماری‌های مهم گندم در مازندران (فروتن و همکاران، ۱۹۹۳)، گرگان و گندد (گلزار، ۱۹۹۳) و مغان (بابادوست، ۱۹۹۵) به شمار می‌رود.

از روش‌های مبارزه با این بیماری می‌توان به روش‌های زراعی و شیمیایی و بیولوژیکی اشاره کرد. روش‌های زراعی و شیمیایی مبارزه با این بیماری کارایی چندانی نداشته‌اند (میلوس و همکاران، ۲۰۰۱؛ پاری و همکاران، ۲۰۰۰).

استفاده از قارچکش‌ها علی‌رغم تأثیر و صرف‌نظر از هزینه‌های اقتصادی و مشکلات زیست‌محیطی، به دلیل بارندگی‌های طولانی در زمان شیوع بیماری بازدهی مناسبی ندارد. از طرفی قارچکش‌ها ممکن است در کاهش میزان آلودگی مؤثر بوده ولی در کاهش غلظت زهراوهای بی‌تأثیر و یا کم اثر باشند (خان و همکاران، ۲۰۰۴). کترول بیولوژیکی می‌تواند به عنوان یکی از روش‌های مبارزه در مدیریت تلفیقی برای مبارزه با این بیماری مورد استفاده قرار گیرد (فروتن و همکاران، ۱۹۹۳). اگرچه کترول

بیولوژیکی فوزاریوم سنبله گندم به صورت تجاری مرسوم نگشته اما امکان پذیر بودن این عمل ثابت شده است (استوکول و همکاران، ۲۰۰۱) و چندین گزارش از کنترل بیماری مذکور توسط میکروارگانیزم‌های آنتاگونیست در مزرعه نیز وجود دارد. به دلیل اینکه در دوره زمانی کمی سنبله‌های غلات نسبت به عامل بلاست فوزاریومی حساس هستند استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک می‌تواند مؤثر واقع شود.

عرابی و رهنما (۲۰۰۸) به منظور مقایسه رقابت تغذیه‌ای جدایه‌های مختلف قارچ تریکودرما با قارچ *Fusarium graminearum* از روش کشت دو طرفه استفاده کردند. در این بررسی از ۳ جدایه *T. virens* و ۲ جدایه *T. harzianum* استفاده شد. آزمون بررسی اثر ترکیبات فرار جدایه‌های تریکودرما در جلوگیری از رشد پرگنه قارچ بیمارگر در ۳ حالت کشت همزمان، ۲۴ ساعت قبل و ۴۸ ساعت قبل از کشت *F. graminearum* انجام گردید. بررسی‌های میکروسکوپی نشان داد که جدایه‌های مختلف تریکودرما با تماس و پیچش فنر مانند دور هیف عامل بیمارگر باعث پارازیته شدن آنها شدند. همچنین جدایه‌های قارچ تریکودرما با تولید مواد ضد قارچی و خاصیت آنتی بیوز باعث ایجاد تغییراتی در هیف‌های عامل بیمارگر اعم از بدشکلی، لیز شدن و قطعه شدن گردیدند. در آزمایش بررسی رقابت تغذیه ای جدایه Th2 بیشترین سرعت پیشروی و رشد را از خود نشان داد. در آزمایش اثر ترکیبات فرار مشخص شد که جدایه تریکودرما تنها در حالی که ۴۸ ساعت زودتر از عامل بیمارگر کشت شدند باعث کاهش رشد عامل بیمارگر گردیدند.

اینج و گیلبرت (۲۰۰۴) از ایزوله‌های T30، T51، T83 و T183 قارچ *Trichoderma harzianum* جهت کنترل *F. graminearum* استفاده کردند. در کشت متقابل عوامل بیولوژیک و قارچ عامل بیماری، تمامی ایزوله‌های تریکودرما از رشد میسلیوم‌های *F. graminearum* جلوگیری کردند. همچنین در شرایط مزرعه برای تعیین تأثیر تریکودرما روی تولید پریتس و آسکوسپورهای *G. zea* روی بقایای گندم سوسپانسیون‌های اسپورهای تریکودرما را طی ۳ زمان مختلف روی بذر تلقیح شده ریختند: ۱-۲۴ ساعت قبل از تلقیح بذر با فوزاریوم ۲- همزمان با تلقیح بذر با فوزاریوم ۳- ۲۴ ساعت بعد از تلقیح بذر با فوزاریوم *F. graminearum*. نتایج این بررسی نشان داد که در شرایطی که سوسپانسیون تریکودرما را ۲۴ ساعت قبل از تلقیح بذر، روی بذور ریختند تولید پریتس و آسکوسپور به طور معنی داری کاهش یافت، در تلقیح همزمان تولید پریتس و آسکوسپور به طور متوسط کاهش یافت ولی در تلقیح بعد از تلقیح با فوزاریوم تولید آسکوسپور و پریتس با

تیمار شاهد آلوده اختلاف معنی داری نداشت. کولومبیت و همکاران (۲۰۰۴) جهت کنترل بیولوژیکی فوزاریوز سنبله گندم در شرایط گلخانه بذور گندم را با پودر تجاری Mycol Gjs که حاوی استرین *Trichoderma asperellum* 03-35 سوسپانسیون (OH182-9) را روی خوشها اسپری کردند. نتایج آزمایش نشان داد که کلیه تیمارها توانستند از شدت آلودگی و تجمع مایکوتوكسین‌ها در دانه به طور معنی داری کاهش دهنند و عملکرد دانه را افزایش دهنند. بوجلد و پولیتزر (۲۰۰۱) از ۴ آنتاگونیست *Bipolaris polimixa* و *Bacillus* sp. *T. harzianum* *T. viridae* استفاده کرد. بررسی‌های انجام شده نشان داد که بذر گندم تیمار شده با *F. graminearum* در مقایسه با گندم‌های تیمار شده با *Bacillus* sp. *T. harzianum* و *T. viridae* حداقل میزان علائم را در سنبله از خود نشان دادند. فرناندز (۱۹۹۹) از ترکیب دو استرین *polimixa* و *T. harzianum* بر روی *F. graminearum* در گیاه گندم استفاده کردند. زمانی که گندم‌ها وارد مرحله گلدهی شدند بعد از اسپورپاشی با سوسپانسیون تریکودرما، سوسپانسیون فوزاریوم اسپورپاشی شدند. نتایج آزمایش نشان داد که هر دو استرین تریکودرما سبب کاهش میزان شدت فوزاریوم سنبله شدند.

هدف از این تحقیق کارایی و بررسی پتانسیل گونه‌های تریکودرماهای بومی بر علیه فوزاریوز سنبله گندم در شرایط مزرعه و ارزیابی میزان کنترل بیماری با توجه به زمان‌های مختلف اسپورپاشی در مقایسه با قارچکش موجود در منطقه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه جدایه‌های عوامل بیوکنترل و عامل بیماری: در این آزمایش از جدایه‌های ۸۸ و ۱۶۵ *F. graminearum* به عنوان عامل فوزاریوم سنبله گندم و همچنین از جدایه *Trichoderma virens* و *T. atroviridae harzianum* به عنوان عوامل کنترل بیولوژیک استفاده شد. لازم به ذکر است که صفات آنتاگونیستی تمامی گونه‌های تریکودرما استفاده شده در آزمایش ابتدا در شرایط آزمایشگاه در مقابل گونه بیمارگر *F. graminearum* مشخص شده بود، به این ترتیب که تمامی گونه‌های تریکودرما در کشت متقابل با گونه فوزاریوم بر روی پتری دیش، قادر به پارازیته کردن ریسه و اسپورهای *F. graminearum* بودند (بaganی، ۲۰۱۱).

روش تهیه مایه گونه‌های آتاگونیست قارچی: جهت تهیه سوسپانسیون، ابتدا محیط کشت *PGB* (Potato Glocose Brooth) تهیه گردید و در ارلن‌های ۲۵۰ میلی لیتری، هر ارلن حاوی ۲۰۰ میلی لیتر محیط کشت، ریخته شد. پس از اتوکلاو کردن، به هر ارلن ۲ دیسک به قطر ۵ میلی‌متر از کشت تریکودرما ۵ روزه اضافه شد. سپس ارلن‌ها به مدت ۱۰ روز در انکوباتور شیکردار نگهداری شدند. سوسپانسیون موجود در ارلن‌ها توسط کاغذ صافی استریل صاف شدند و سوسپانسیون سبز رنگی از تریکودرماها تهیه شد و با استفاده از لام هموسیتو مترا (اسپورشمار)، تراکمی از این سوسپانسیون‌ها معادل 3×10^7 اسپور در هر میلی لیتر تهیه گردید (باغانی و همکاران، ۲۰۱۱).

روش تهیه مایه *F. graminearum*: جهت تهیه سوسپانسیون عامل بیماریزا، درون ارلن‌های ۲۵۰ میلی لیتری ۸ گرم کاه و کلش گندم آسیاب شده ریخته شد. سپس به ارلن‌ها، ۱۲۵ سی سی آب مقطر افزوده و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد و فشار $1/5$ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه ۲ بار اتوکلاو گردیدند. پس از اتوکلاو در هر ارلن ۱ دیسک از محیط کشت ۳-۵ روزه ایزوله ۸۸ و ۲ دیسک از محیط کشت ۳-۵ روزه ایزوله ۱۶۵ هر کدام به قطر ۵ میلی‌متر قرار داده شد. سپس ارلن‌ها به مدت ۱۰-۷ روز در انکوباتور شیکردار قرار گرفتند. بعد از گذشت این مدت مخلوط بوسیله کاغذ صافی صاف شد و عصاره تهیه گردید و با استفاده از لام هموسیتو مترا (اسپورشمار)، تراکمی از این سوسپانسیون معادل 3×10^5 اسپور در هر میلی لیتر عصاره‌های تهیه شد.

قارچ کش مورد استفاده: در این تحقیق از سم پروپیکونازول یا تیلت با دوز یک لیتر در هکتار به عنوان یکی از سوم مورد مصرف در منطقه جهت کنترل شیمیایی بلاست فوزاریومی سنبله گندم استفاده شد.

عملیات کاشت در مزرعه: دو رقم فلاٹ و مغان به صورت آزمایش اسپیلت پلات-فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی، به گونه‌ای که زمان‌های مختلف اسپورپاشی به عنوان پلات اصلی و پلات فرعی شامل فاکتور رقم با دو سطح (فلاٹ و مغان) و فاکتور تیمارها با ۶ سطح (*T. virens*, *T. atroviridae*, *T. harzianum*) که در هم ادغام شده و به صورت تصادفی در پلات اصلی جای گرفته بودند، با ۳ تکرار در ایستگاه تحقیقات کشاورزی گرگان کشت شدند. هر تیمار در داخل کرت‌هایی به اندازه $2 \times 1/2$ متر با استفاده از دست کاشته شد (هر کرت دارای ۴ ردیف ۲ متری بود).

مايه زني قارچ های آنتاگونیست و قارچ عامل بیماری بر روی گندم: در شرایط مزرعه زمانی که ۱۵-۲۰ درصد گندمها وارد مرحله گلدهی شدند اسپورپاشی ها آغاز شدند. قبل از مايه زني سطح خوشها با استفاده از سیستم مه پاش (Mist Irrigation) به مدت ۱۵ دقیقه کاملاً خیس شده و سپس اسپورپاشی ها بوسیله سمپاش های پشتی - موتوری صورت گرفتند. توالی اسپورپاشی ها، ۴ بار با فاصله زمانی ۲ روز انجام شدند.

نحوه استفاده از قارچ کش: زمانی که ۲۰ درصد گندمها وارد مرحله گلدهی شدند، ابتدا با سوسپانسیون *F. graminearum* اسپورپاشی شدند و ۲ روز بعد از آن با سم پروپیکونازول با دوز ۰/۵ درصد سمپاشی گردیدند.

ارزیابی فاکتورهای آلدگی: سه روز بعد از آخرین اسپورپاشی شدت بیماری و موقعیت بیماری مطابق با فرمول زیر برای هر کرت محاسبه گردید. به منظور تعیین فاکتورهای شدت بیماری و موقعیت بیماری از هر کرت ۱۰۰ خوش به طور تصادفی انتخاب شد و فاکتورهای آلدگی برای آنها تعیین گردید.

$$\frac{\text{تعداد سنبلچه های آلدود در یک سنبله}}{\text{تعداد کل سنبلچه ها در یک سنبله}} \times 100 = \text{شدت آلدگی} S$$

$$\frac{\text{تعداد سنبله های آلدود}}{\text{تعداد کل سنبله ها}} \times 100 = \frac{\text{درصد آلدگی I}}{\text{درصد آلدگی II}}$$

در اواخر خرداد ماه برداشت گندم به صورت دستی انجام شد. از هر کرت به طور تصادفی ۲۰۰ سنبله انتخاب گردید و بوسیله خرمن کوب کوییده شد و جهت تعیین وزن هزار دانه و عملکرد دانه به آزمایشگاه منتقل شدند. برای تعیین عملکرد دانه مربوط به هر تیمار کل بذرهای بدست آمده از ۲۰۰ سنبله مربوط به هر کرت پس از خرمن کوب بوسیله دست پاک شدند و وزن کل آنها با استفاده از ترازوی دیجیتالی با خطای ۰/۰۱ درصد اندازه گیری شد. جهت تعیین وزن هزار دانه از هر تیمار ۵۰۰ دانه بوسیله دستگاه Seed Counter شمارش شد و به وسیله ترازوی دیجیتالی با خطای ۰/۰۱ درصد وزن شدند و سپس عدد به دست آمده دوبرابر شد و وزن هزار دانه بدست آمد.

تجزیه و تحلیل آماری: داده‌های حاصل از بررسی مزرعه‌ای، توسط نرم افزار آماری StatGrafics مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. گروه‌بندی تیمارها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

طبق نتایج به دست آمده از بررسی تأثیر عوامل کترلی آنتاگونیست و قارچکش بر روی درصد آلدگی، شدت آلدگی فوزاریوم سنبله گندم و عملکرد دانه و وزن هزاردانه بر روی دو رقم فلات و مغان، تمامی تیمارها با احتمال ۹۹ درصد با یکدیگر اختلاف معنی داری داشتند. همچنین بین دو رقم استفاده شده در آزمایش در رابطه با درصد آلدگی، شدت آلدگی و وزن هزاردانه با احتمال ۹۹ درصد اختلاف معنی داری مشاهده گردید و نیز اثر متقابل بین فاکتور ارقام و عوامل کترلی در رابطه با درصد آلدگی با احتمال ۹۹ درصد با یکدیگر اختلاف معنی داری داشتند. بنابراین نتایج نشان می‌دهد که دو فاکتور ارقام و عوامل کترلی مستقل‌اً بر روی درصد آلدگی تأثیر نمی‌گذارند بلکه دارای اثرات متقابل هستند و باید به روند اثرات ساده آنها توجه نمود (جدول ۱).

بنابراین با توجه به معنی دار شدن آنها مقایسه میانگین بین داده‌های به دست آمده جهت تعیین و معرفی بهترین تیمار کترلی و رقم گندم صورت گرفت.

نتایج آزمایشات نشان داد که بین سه زمان مختلف اسپورپاشی عوامل بیوکترلی تریکودرما، در رابطه با درصد آلدگی، شدت آلدگی و وزن هزاردانه در سطح احتمال ۹۵ درصد اختلاف معنی داری مشاهده شد که بنابراین با توجه به معنی دار شدن آنها به منظور تعیین مناسب‌ترین زمان استفاده از عوامل آنتاگونیستی، مقایسه میانگین بین داده‌های بدست آمده صورت گرفت (جدول ۲).

فاطمه باغانی و همکاران

جدول ۱- نتایج آزمون تجزیه واریانس مقایسه میانگین تأثیر عوامل کنترلی، آنتاگونیست و قارچکش و ارقام گندم بر روی درصد آلدگی، شدت آلدگی، عملکرد دانه و وزن هزاردانه.

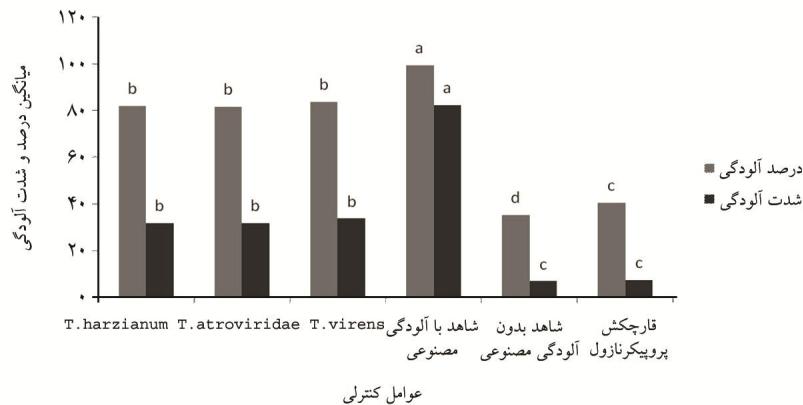
منابع تغییرات	آزادی	درجه	میانگین مرباعات (MS)		
			وزن هزاردانه	عملکرد دانه	شدت آلدگی
تیمارهای کنترلی	۵	۴۱۱۲/۷۴ ** ^۱	۶۰/۴۳ **	۱۷۱۰۱/۴ **	۴۵۲۴/۴۵ **
ارقام گندم	۱	۴۶۹/۴۴ **	۵/۸۰۸ ns	۷۳۷۷/۸۱ **	۲۵۳/۶۵۹ **
ارقام ×تیمارهای کنترلی	۵	۱۱۸/۳۵ **	۵/۵۵۹ ns	۳۵۴/۳۵ ns	۱۲/۶۴ ns
تکرار	۲	۲۶/۲۶	۰/۶۷	۶۳۵/۷۲	۱۶/۹۶
خطای آزمایشی	۲	۴۲/۷۸	۵/۴۲	۳۰۰۸/۲۱	۲۸/۵۲
خطای نمونه گیری	۲۰	۱۰/۶	۵/۶۷	۸۰۳/۷۱	۶/۸۴
کل	۳۵				
CV		۴/۶۲	۹/۳۴	۲۱/۴۷	۸/۱۰۶

** و ns به ترتیب یعنی تیمارها در سطح احتمال ۹۹ درصد دارای اختلاف معنی داری هستند، تیمارها فاقد اختلاف معنی داری هستند.

جدول ۲- نتایج آزمون تجزیه واریانس مقایسه میانگین تأثیر زمانهای مختلف اسپورپاشی، عوامل آنتاگونیستی تریکوودرما بر روی درصد آلدگی، شدت آلدگی، عملکرد دانه و وزن هزاردانه.

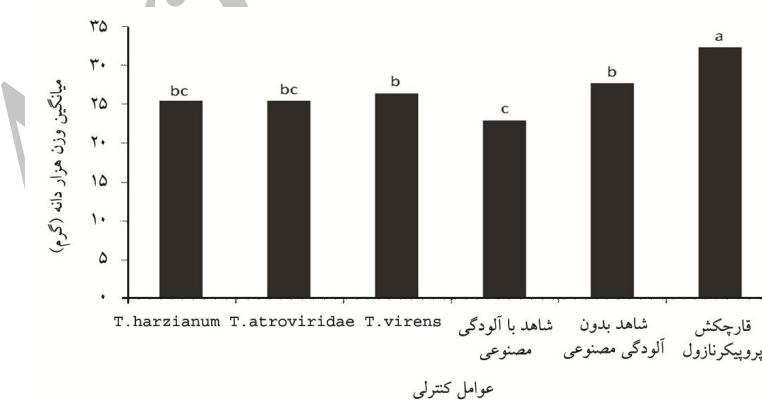
منابع تغییرات	آزادی	درجه	میانگین مرباعات (MS)		
			وزن هزاردانه	عملکرد دانه	شدت آلدگی
زمانهای مختلف	۲	۵۵/۷۴ * ^۱	۱۵/۶۴ ns	۱۸۷۵/۲۵ *	۳۶/۲۳۴ *
اسپورپاشی					
تکرار	۲	۲۷/۷۹	۰/۹۸۸	۲۳۸/۵۵	۲۲/۱۹۷
خطا	۴	۴/۱۷۸	۲/۳۲	۲۳۸/۹۸	۳/۴۲۳
کل	۸				
CV		۲/۴۸	۵/۹۲	۱۴/۹۹	۵/۷۱

**، * و ns به ترتیب یعنی تیمارها در سطح احتمال ۹۹ درصد دارای اختلاف معنی داری هستند، تیمارها در سطح احتمال ۹۵ درصد دارای احتمال معنی داری هستند، تیمارها فاقد اختلاف معنی داری هستند.



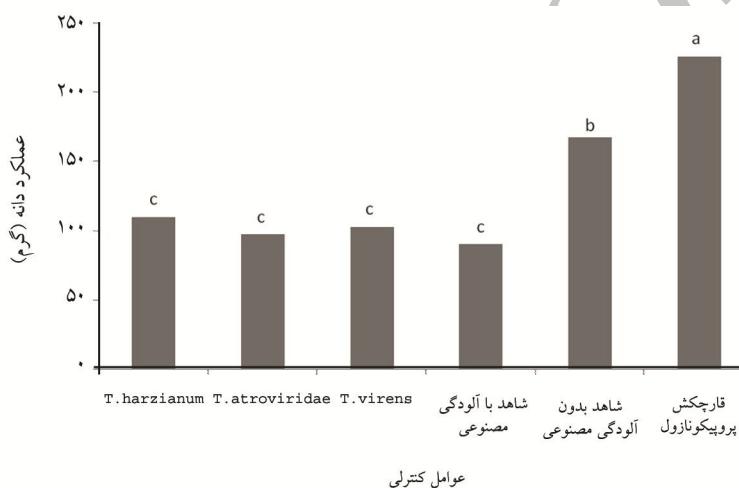
شکل ۱- مقایسه میانگین درصد و شدت آلدگی فوزاریوم سبله در تیمارهای کنترلی.

با توجه به شکل ۱، نتایج بررسی داده‌ها نشان داد که تمامی تیمارها با سطح احتمال ۹۵ درصد با تیمار شاهد با آلدگی مصنوعی اختلاف معنی داری داشتند و درصد و شدت آلدگی در آنها کمتر از تیمار قارچکش بود. که در این بین در رابطه با درصد آلدگی تیمار قارچکش با ۴۰/۳۳ درصد آلدگی کمترین میزان درصد آلدگی را بعد از تیمار شاهد سالم نشان داد و در رابطه با شدت آلدگی کمترین میزان آلدگی در تیمارهای قارچکش (با ۷/۳۸ درصد) و تیمار شاهد سالم (با ۶/۸۳ درصد) مشاهده شد که این تیمارها در یک گروه آماری قرار داشتند. بعد از تیمار شاهد آلدگی تیمارهای *T. virens* و *T. atroviridae* *T. harzianum* به ترتیب با ۸۱/۶ و ۸۳/۷۷ درصد آلدگی و شدت آلدگی ۳۱/۷۶ و ۳۱/۶۵ درصد، که همگی در یک گروه آماری قرار داشتند بیشترین میزان درصد آلدگی را نشان دادند.



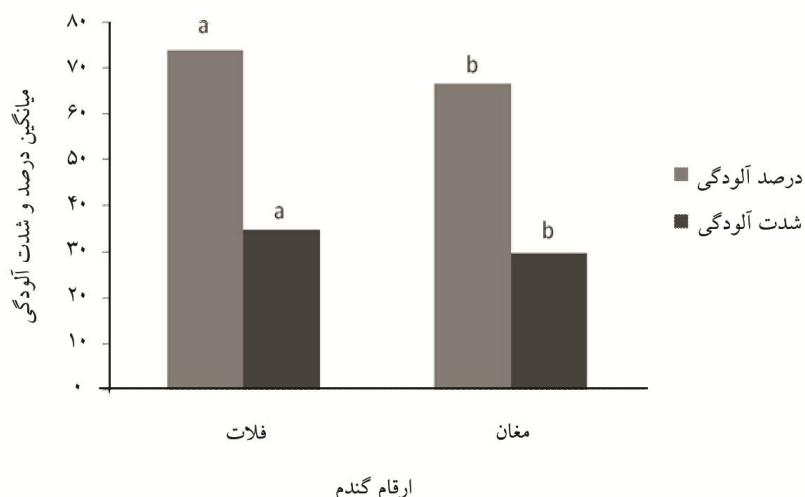
شکل ۲- مقایسه میانگین وزن هزاردانه بر حسب گرم در تیمارهای کنترلی.

با توجه به شکل ۲، نتایج بررسی‌ها نشان داد که در ارتباط با وزن هزاردانه تمامی تیمارها با تیمار شاهد با آلودگی مصنوعی، اختلاف معنی داری داشتند و وزن هزاردانه آنها در مقایسه با تیمار شاهد آلوده بیشتر بوده است در این بین تیمار قارچکش (با میانگین وزن هزاردانه $32/3$ گرم) بیشترین وزن هزاردانه را نشان داد که میانگین وزن هزاردانه در این تیمار حتی از تیمار سالم نیز بیشتر بوده است. نتایج بررسی‌ها نشان داد که بیشترین میزان وزن هزاردانه در تیمار قارچکش (با $32/3$ گرم وزن) مشاهده گردید که میانگین عملکرد دانه در این تیمار حتی از تیمار سالم نیز بیشتر بوده است. کمترین میزان وزن هزاردانه نیز قبل از تیمار شاهد آلوده در تیمارهای *T. atroviridae* و *T. harzianum* به ترتیب با $25/43$ و $25/39$ گرم وزن مشاهده گردید.



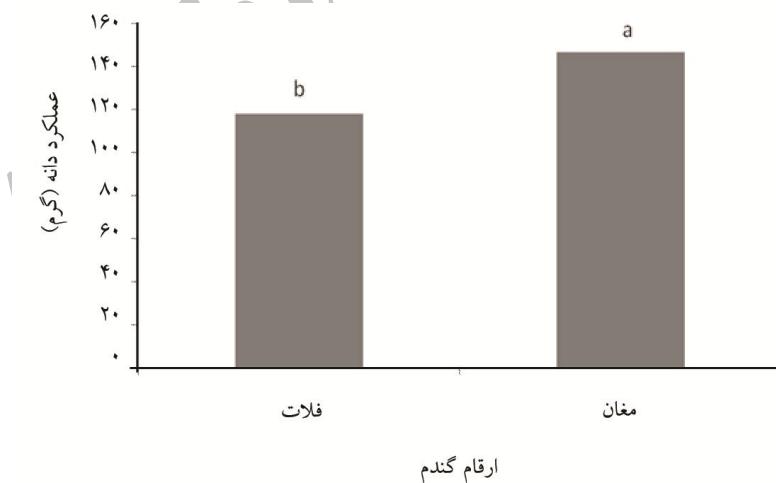
شکل ۳- مقایسه میانگین عملکرد دانه بر حسب گرم در تیمارهای کنترلی.

شکل ۳، نشان داد که بیشترین میزان عملکرد دانه در تیمار قارچکش (با عملکرد دانه $225/33$ گرم) مشاهده گردید. کمترین میزان عملکرد دانه نیز در تیمارهای *T. atroviridae*, *T. harzianum* و *T. virens* گرم مشاهده گردید که کلیه این تیمارها با یکدیگر اختلاف معنی داری نداشتند و در یک گروه آماری قرار داشتند.



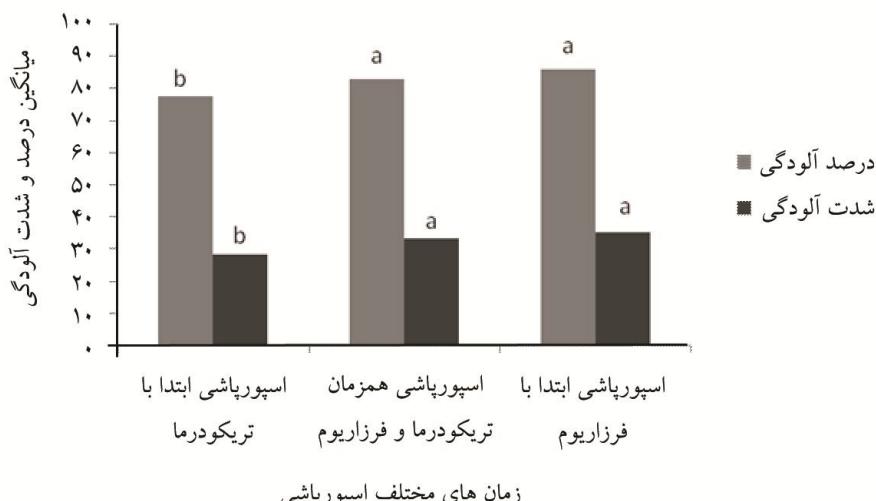
شکل ۴- مقایسه میانگین درصد و شدت آسودگی فوژاریوز سنبه بر روی ارقام مختلف گندم.

نتایج بررسی داده‌ها نشان داد در رابطه با شدت و درصد آسودگی بین ارقام گندم (فلات و مغان) اختلاف معنی‌داری در سطح ۹۵ درصد وجود داشت. رقم مغان با شدت آسودگی ۲۹/۶۱ درصد و درصد آسودگی ۶۶/۷۵ درصد در مقایسه با رقم فلات با شدت آسودگی ۳۲/۹۲ درصد و درصد آسودگی ۷۳/۹۷ درصد نتایج بهتری را نشان داد (شکل ۴).



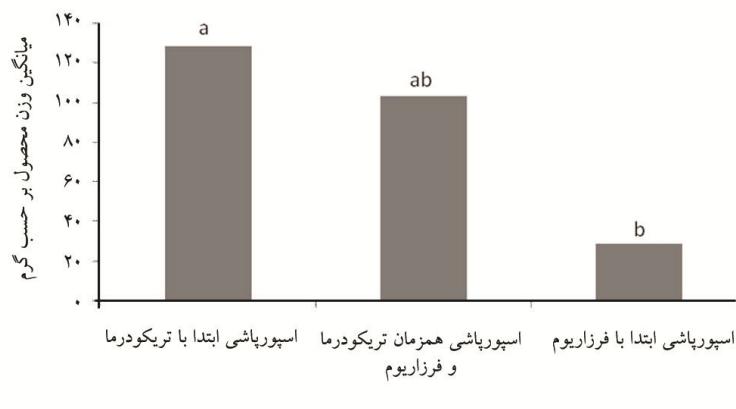
شکل ۵- مقایسه میانگین عملکرد دانه بر حسب گرم بر روی ارقام مختلف گندم.

با توجه به شکل ۵، نتایج بررسی داده‌ها نشان داد که در رابطه با عملکرد دانه بین دو رقم گندم اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۹۵ درصد مشاهده گردید. رقم مغان با میانگین عملکرد دانه ۱۴۶/۱۷ گرم در مقایسه با رقم فلات با میانگین عملکرد دانه ۱۱۷/۶۷ گرم نتایج بهتری را نشان داد.



شکل ۶- مقایسه میانگین درصد و شدت آلدگی فوزاریوم سبله در زمان‌های مختلف اسپورپاشی.

با توجه به شکل ۶، نتایج تجزیه داده‌ها در رابطه با میانگین درصد و شدت آلدگی نشان داد که بین سه زمان مختلف اسپورپاشی ابتدا با تریکودرما و دو روز بعد با فوزاریوم انجام شد (با شدت آلدگی بین زمانی که، اسپورپاشی ابتدا با تریکودرما و دو روز بعد با فوزاریوم دوم، یعنی اسپورپاشی همزمان تریکودرما و فوزاریوم) (با شدت آلدگی ۳۳/۲۴ درصد و درصد آلدگی ۸۲/۹۹ درصد) و سوم، یعنی اسپورپاشی ابتدا با فوزاریوم و دو روز بعد با فوزاریوم (با شدت آلدگی ۳۵/۳۳ درصد و درصد آلدگی ۸۶/۳۸ درصد) کمترین میزان درصد و شدت آلدگی را نشان داد. همچنین بین زمان‌های دوم و سوم اختلاف معنی داری مشاهده نشد و در یک گروه آماری قرار گرفتند. در نتیجه زمانی که، اسپورپاشی ابتدا با تریکودرما و دو روز بعد با فوزاریوم انجام شد به عنوان بهترین و کارآمدترین زمان استفاده از عوامل بیولوژیک در شرایط مزرعه شناخته گردید.



شکل ۷- مقایسه میانگین عملکرد دانه بر حسب گرم در زمان های مختلف اسپورپاشی.

شکل ۷، نشان داد که در رابطه با عملکرد دانه، بین ۳ زمان مختلف اسپورپاشی در سطح احتمال ۹۵ درصد اختلاف معنی داری مشاهده گردید. که در این بین زمانی که اسپورپاشی ابتدا با تریکودرما و دو روز بعد با فوزاریوم انجام شد (با میانگین وزن ۱۲۸/۲۷ درصد) در مقایسه با زمان‌های دوم، یعنی اسپورپاشی همزمان تریکودرما و فوزاریوم (با میانگین عملکرد دانه ۱۰۷/۷۷ درصد) و زمان سوم، یعنی اسپورپاشی ابتدا با فوزاریوم و دو روز بعد با فوزاریوم (با میانگین وزن ۲۸/۲۷ درصد) بیشترین میزان عملکرد دانه را نشان داد. کمترین میزان عملکرد دانه نیز در تیمار S1 مشاهده شد.

در این بررسی از سه گونه *T. atroviridace*, *T. virens* و *T. harzianum* به عنوان عوامل کنترل بیولوژیک استفاده گردید. در بررسی‌های انجام شده در ایران و سایر کشورها از این گونه‌ها علیه استفاده شده بود (باغانی، ۲۰۱۱؛ عراقی و رهنما، ۲۰۰۸؛ بوجلد و پولیتز، ۲۰۰۱؛ اینچ و گیلبرت، ۲۰۰۴). اما اعم بررسی‌ها در شرایط آزمایشگاه و کشت متقابل صورت پذیرفته بودند در حالی که در این آزمایش از عوامل کنترل بیولوژیک در شرایط مزرعه و به صورت اسپورپاشی بر روی خوش‌های گندم استفاده شد و همین علت، دلیل تمایز این بررسی نسبت به تحقیق‌های گذشته می‌باشد.

نتایج حاصل از بررسی تأثیر گونه‌های آنتاگونیست تریکودرما بر روی درصد آводگی، شدت آводگی فوزاریوم سنبله گندم و وزن هزاردانه بر روی دو رقم فلات و مغان در شرایط مزرعه نشان داد

که، تمامی تیمارها با احتمال ۹۵ درصد با تیمار شاهد با آلودگی مصنوعی اختلاف معنی داری داشتند و درصد و شدت آلودگی در آنها کمتر و وزن هزاردانه در آنها بیشتر از تیمار شاهد آلوده بود که با نتایج عراقی و رهنما (۲۰۰۸)، اینچ و گیلبرت (۲۰۰۴)، کولومبیت و همکاران (۲۰۰۴)، بوجلد و پولیتر (۲۰۰۱) و فرناندز (۱۹۹۹) مطابقت داشت. همچنین نتایج نشان داد که، تیمار قارچکش درصد و شدت آلودگی کمتر و وزن هزاردانه و عملکرد دانه بیشتری را در مقایسه با تیمارهای آتاگونیستی تریکوودرما داشت (شکل ۱ و ۲). بنابراین، این بررسی نشان داد که استفاده از قارچکش می‌تواند در مبارزه علیه فوزاریوز سبله گندم مؤثرتر باشد اما با توجه به اینکه گونه‌های تریکوودرما توانستند سبب کاهش بیش از ۵۰ درصدی شدت آلودگی فوزاریوم سبله گندم شوند می‌توان در آینده نزدیک با بررسی‌های بیشتر در شرایط مختلف، از این گونه‌ها به عنوان یک راهکار اساسی در کنترل بیولوژیک این بیماری استفاده کرد.

در رابطه با زمان‌های مختلف اسپورپاشی در ارتباط با درصد و شدت آلودگی و عملکرد دانه، نتایج نشان داد که تیمارهایی که در زمان اول، یعنی اسپورپاشی ابتدا بوسیله تریکوودرما و دو روز بعد با فوزاریوم استفاده شده بودند نتایج بهتری را در مقایسه با زمان‌های دوم، یعنی اسپورپاشی همزمان تریکوودرما و فوزاریوم و زمان سوم، یعنی اسپورپاشی ابتدا با فوزاریوم و دو روز بعد با تریکوودرما نشان داد. به عبارتی در شرایطی که سوسپانسیون تریکوودرما ۲ روز قبل از سوسپانسیون فوزاریوم استفاده شود کاهش معنی‌داری در آلودگی خوش‌های فوزاریوم مشاهده می‌شود که احتمالاً در این شرایط سطح خوش‌به وسیله اسپورهای تریکوودرما اشغال می‌شود، این اسپورها در این فاصله زمانی ۲ روزه جوانه زنی کرده و زمانی که سلول سوسپانسیون حاوی کنیدی فوزاریوم بر روی خوش‌های پاشیده می‌شود قادر به رقابت با اسپورهای تریکوودرما نیستند و به آسانی با این اسپورها پارازیته می‌شوند. در بررسی‌های انجام شده در کشت متقابل گونه‌های تریکوودرما با قارچ *F. graminearum* بر روی محیط کشت غذایی مشخص گردیده است، برخی گونه‌های تریکوودرما می‌توانند مانع از جوانه زنی کنیدی‌های فوزاریوم شوند (باغانی، ۲۰۱۱؛ عراقی و رهنما، ۲۰۰۸؛ و اینچ و گیلبرت، ۲۰۰۴). در نتیجه زمان T1 به عنوان کارآمدترین زمان مصرف سوسپانسیون تریکوودرما شناخته شد که با بررسی‌های عراقی و رهنما (۲۰۰۸) و اینچ و گیلبرت (۲۰۰۴) مطابقت داشت (شکل ۶ و ۷).

منابع

1. Aragi, M., and Rahnama, K. 2008. The study of biological control of *Fusarium graminearum* by two species of *Trichoderma* in lab conditions. Pajouhesh. Sazandegi. 81:197-199.
2. Babadoost, M. 1995. Occurrence of *Fusarium* species in seeds of wheat in Eastern Azarbayjan province and Ardabil. Iran J. Plant Pathol. 31:88-100.
3. Baghani, F. 2011. Biological control of *Fusarium* head blight of wheat under greenhouse and field conditions. A thesis for degree of M.Sc in Plant Pathology.
4. Baghani, F., Rahnama, K., and Dehghan, M.A. 2010. The study on the impact of native *Trichoderma* species compared to fungicide application propiconazole against fusarium head blight in greenhouse conditions. Proceedings of the 19th Iranian Plant Protection Congress, Tehran.
5. Baghani, F., Dehghan, M.A., and Rahnama, K. 2010. The study of using times of biological against *Fusarium* head blight in greenhouse conditions. Proceedings of the 19th Iranian Plant Protection Congress, Tehran.
6. Bujold, I., and Paulits, T.C. 2001. Effect of *Microsphaeropsis sp.* on the Production of Perithecia and Ascospores of *Gibberella zaeae*. Plant Dis. 85:977-984.
7. Fernandez, M.R. 1999. The effect of *Trichoderma harzianum* on fungal pathogens infecting wheat and black oat straw. Soil Biological. Biochem. 24:1031-1034.
8. Foroutan, A., Ershad, D., Dalili, A., Bamdadian, T., and Gerami, G.H. 1993. Occurrence of head blight of wheat in Mazandaran. Proceedings of the 11th Iranian Plant Protection Congress, Gillan University, Rasht.
9. Foroutan, A., Rahimian, H., and Alizadeh, A. 2005. Effect of antagonistic bacterial on *Fusarium* head blight of wheat. Iran J. Plant Pathol. 41:455-473.
10. Golzar, H. 1993. Distribution of *Fusarium* head blight in Gorgan and Gonbad areas and response of commercial wheat cultivars to disease. Proceedings of the 11th Iranian Plant Protection Congress, Gillan University, Rasht. p:33.
11. Golzar, H., Foroutan, A., and Ershad, D. 1998. Studies off *Fusarium* species causing head blight of wheat and sources of resistance to *F. graminearum* in Gorgan and Mazandaran. Iran J. Plant Pathol. 34:158-169.
12. Inch, S. and Gilbert, L. 2004. The Evaluation of *Trichoderma harzianum* as a Biological Control agent of *Giberella zaeae*. In 2004 National Fusarium Head Blight Forum Proceedings. Page:75.
13. Khan, N., Schisler, D.A., Boehm, M.Y., Lipps, P. E. and Slininger, P.Y. 2004. Field testing of antagonists of *Fusarium* head blight incited by *Gibberella zaeae*. Biol Con. 29:245-255.
14. Kolombet, L.V., Sokolov, M.S., Pavlova, T.V., Schisler, D.A. and Samuels, G.J. 2004. The use of *Trichoderma asperillum* and the yeast *Cryptococcus*

- nodaensis* in Russia to reduce *Fusarium* Head Blight. In 2004 National Fusarium Head Blight Forum Proceedings. Page: 36.
15. Milus, E.A., Hershman, D. and McMullen, M. 2001. Analysis of the 2001 Uniform Wheat Fungicide and Biocontrol Trial Across Locations. Pages 75-79 in: [proc.] 2001 National Fusarium Head Blight Forum, 8-10 December 2001, Erlanger, KY.
16. Parry, D.W., Jenkinson, P. and Mcleod, L. 2000. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals- a review. Plant Pathol. 44:207-238.
17. Stock Well, C.A. Bergeson, G.C. and Da Luz, W.C. 2001. biological control of Fusarium head blight with *Bacillus subtilis* TrigoCor 1448: 2001 Field Results. Pages:91-96 in: [Proc] 2001 National *Fusarium* head blight Forum, 8-10 December 2001, Erlanger, KY.



Biological control of Fusarium head blight (*Fusarium graminearum*) by application of three native *Trichoderma* species in field

F. Baghani¹, K. Rahnama¹, M.A. Aghajani² and M.A. Dehghan²

¹Dept. of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources,

²Agricultural and Natural Resources Research Center of Golestan Province, Gorgan

Abstract

Fusarium disease of wheat is one of the important diseases in wet and subtropical regions in Iran. Using the biological agents is effective in controlling this disease. In this experiment, were used 3 species of native *Trichoderma*: *T. atroviridae*, *T. harzianum* and *T. virens* as biological agents. Also to compare between the effects of fungicide and antagonist agents were used of Propiconazole. Tested on two wheat cultivars Falat & Moghan, in the form of spilet plot-factoriel with 3 replications in the field conditions. When spikes were in the pollination stage they were sprayed in three different times: T1 (first sprayed with *Trichoderma* suspensions ($3 \times 10^7/\text{ml}$) and two days after sprayed with *Fusarium* suspensions ($3 \times 10^5/\text{ml}$)), T2 (sprayed with *Fusarium* and *Trichoderma* simultaneously) and T3 (first sprayed with *Fusarium* suspensions ($3 \times 10^5/\text{ml}$) and two days after sprayed with *Trichoderma* suspensions ($3 \times 10^7/\text{ml}$)). The mean comparisions showed that all control treatments had a significant difference, with infected control treatment($p=95\%$), and in infected control treatment was higher infection rate and severity of pollution and was less thousand grain weight, compared with other treatments. In other treatments, fungicide treatment was less infection rate and severity of pollution and was higher thousand grain weight and yield compared with antagonistic treatments ($p=95\%$). In different times of sprayed in relation to infection rate and severity of pollution and yield, the results showed that the treatments which were used at T1 better results compared with the time T2 and T3. Consequently, the time T1 was known as the most efficient use *Trichoderma*. In relation to varieties of wheat the results showed that, between two cultivars wheat were significant difference and cultivar of moghan showed the better results compared with falat cultivar.

Keywords: *Fusarium graminearum*; *Trichoderma*; Propiconazole; Biological control.

*Corresponding Author; Email: fatemebaghani@yahoo.com