نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و دوم، شماره یکم، ۱۳۹٤
http://jopp.gau.ac.ir

کنترل زیستی بیماری پوسیدگی فوزاریمی ریشه گندم با استفاده از آنتاگونیست‌های قارچی در استان مازندران

حسین براری*
استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران
تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۱۰

چکیده

عامل پوسیدگی ریشه گندم قارچ *Gibberella zeae* (Schw.) Petch (*Fusarium graminearum* (Schwabe) می‌باشد. این بیماری در زمین‌های آلوده و شرایط مناسب باعث کاهش عملکرد قابل توجه محصول می‌گردد. هدف از این مطالعه بررسی اثر بخشی گونه‌های قارچ‌های آنتاگونیست انتخاب شده در برابر بیمارگر خاکزی *F. graminearum* تحت شرایط گلخانه و مزرعه بود. در این بررسی رشد قارچ *F. graminearum* (F3) توسط متابولیت‌های آزاد سلولی و مواد فرار سه جدایه از ۱۵ جدایه آنتاگونیست قارچی تریکودرما (۲، ۱۰ و ۱۲) کاهش یافته بود که برای آزمایش‌های گلخانه‌ای و مزرعه‌ای انتخاب شدند. در این میان آنتاگونیست *Trichoderma harzianum* جدایه ۱۲ به‌طور معنی‌داری ($P\leq ۰/۰۵$) درصد وقوع (۸/۳ درصد) و شدت (٤/۱ درصد) بیماری را ۳۵ روز پس از تلقیح کاهش و وزن هزار دانه (۳۸ گرم) را در شرایط گلخانه‌ای افزایش داد. برای تایید آزمایش گلخانه، آنتاگونیست‌های انتخاب شده مجددا در شرایط مزرعه مورد آزمایش قرار گرفتند. این جدایه (T.12) نیز توانست میزان درصد وقوع و شدت بیماری را به‌ترتیب (۱۰درصد) و (۳/۱ درصد) کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: *Fusarium graminearum, Trichoderma harzianum*، کنترل زیستی، گندم

*نویسنده مسئول: hosseinbarari1385@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

بیماری پوسیدگی ریشه گندم در اثر چندین گونه قارچ، از جمله *Pythium* spp. *Gaeumannomyces graminis* var *tritici, Cochliobolus sativus, Fusarium graminearum, F. culmorum* and *Rhizoctonia solani*. *Fusarium graminearum*، ایجاد می‌گردد که در میان آن‌ها قارچ *Fusarium graminearum*، شایع‌ترین عامل پوسیدگی ریشه گندم و جو در استان مازندران می‌باشد (فروتن و همکاران، ۲۰۰۷). این بیماری از طریق زوال بافت طوقه، سفید شدن زودرس سنبله مشخص می‌شود. علائم در گیاهان آلوده، تا قبل از مرحله خوشه کمتر ظاهر شده که در این زمان پوسیدگی طوقه به اندازه کافی پیشرفت داشته و مانع انتقال آب و املاح به قسمت‌های بالایی بوته می‌گردد.

عامل بیمارگر بذر زاد و خاکزاد است و کنیدی‌ها، میسلیوم‌ها، کلامیدوسپورها و بقایای گیاهی آلوده مایه تلقیح اولیه بیمارگر را برای شروع آلودگی فراهم می کنند. این بیماری سبب کاهش قابل توجه محصول گندم می گردد. به غیر از خسارت کمی محصول، بعضی از جدایه‌های این بیمارگر زهرابه‌های قارچی تولید می‌کنند که برای انسان و حیوان خطرناکند (نلسون و همکاران، ۱۹۹۳ ؛ پاری و همکاران، ۱۹۹۵).

کنترل این بیماری مشکل بوده و ضدعفونی خاک برای کنترل بیماری موثر است ولی هزینه آن بسیار زیاد می‌باشد. محدودیت‌هایی در توسعه استفاده از ارقام مقاوم وجود دارد. روش‌های سنتی مانند تناوب زراعی بلندمدت، زیر خاک کردن بقایای آلوده با شخم عمیق و افزایش مواد آلی خاک می تواند برای کنترل بیماری خاکزاد مفید باشد ولی این عمل با تناوب‌های کوتاه مدت، نظام تک کشتی[1] و کشت متراکم[2] برای افزایش تولید بی اثر می‌شود (کوک، ۱۹٦۸؛ کوک و برول، ۱۹٦۸). بنابراین استفاده ازسایر روش‌های کنترل در مدیریت تلفیقی کاهش بیماری یک امر ضروری است.

در کنترل زیستی این بیمارگر، بعضی از آنتاگونیست‌های قارچی از جمله گونه‌های مختلف تریکودرما و گلیوکلادیوم امید بخش می‌باشد. فعالیت آنتاگونیستی گونه‌های مختلف تریکودرما در برابر عوامل بیماریزای گیاهی به طور وسیعی مطالعه شده‌اند (هیل جرد و همکاران، ۲۰۰۱؛ کراش و همکاران، ۲۰۰۱). عراقی و رهنما (۲۰۰۸) به‌منظور مقایسه رقابت تغذیه‌ای جدایه های مختلف قارچ تریکودرما با قارچ *Fusarium graminearum* از روش کشت دو طرفه استفاده کردند. در این بررسی

1. Monoculturing
2. Intensive cropping

Archive of SID

www.SID.ir

از ۳ جدایه *T. harzianum* و ۲ جدایه *T. virens* استفاده شد. آزمون بررسی اثر ترکیبات فرار جدایه‌های تریکودرما در جلوگیری از رشد پرگنه قارچ بیمارگر در ۳ حالت کشت هم‌زمان، ۲٤ ساعت قبل و ٤۸ 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 جدایه های 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 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 ٤۸ ساعت زودتر از عامل بیمارگر کشت شدند باعث کاهش رشد عامل بیمارگر گردیدند. وجلد و پولیتز (۲۰۰۱) از ٤ آنتاگونیست *T. viridae*، *T. harzianum*، *Bacillus sp.* و *Bipolaris polimixa* جهت کنترل *F. graminearum* استفاده کردد. بررسی‌های انجام شده نشان داد که بذر گندم تیمار شده با *T. viridae* و *Bacillus* sp. در مقایسه با گندم‌های تیمار شده با *T. harzianum* و *Bipolaris polimixa* حداقل میزان علائم را در سنبله از خود نشان دادند. تعدادی از ترکیبات تجاری بر اساس *Trichoderma harzianum* و *T. virens* برای درمان بیماری‌های خاکزاد و بیماری‌های برگی در طیف وسیعی از محصولات باغبانی وجود دارند (هارمن و همکاران، ۱۹۹٦؛ لومسون و همکاران ۱۹۹۲؛ ساموئل، ۱۹۹٦)، اما اطلاعات کمی درباره تاثیر جدایه‌های تریکودرما روی پوسیدگی فوزاریمی ریشه در استان مازندران وجود دارد. هدف از این مطالعه بررسی توان بالقوه برخی از جدایه‌های قارچ آنتاگونیست تریکودرما بومی خاک مازندران برای کنترل بیولوژیک پوسیدگی فوزاریومی ریشه گندم در مازندران بود.

مواد و روش‌ها

گونه‌های قارچ بیمارگر و آنتاگونیست استفاده شده در این مطالعه، از بوته‌های بیمار گندم در مرحله پر شدن دانه‌ها و نمونه‌های خاک خشک به‌طور جداگانه از مزارع مختلف استان مازندران شامل شهرهای قائم‌شهر، ساری، نکا، بهشهر، گلوگاه و جویبار طی سال زراعی ۹۰-۱۳۸۹ جمع‌آوری شدند.

قارچ *Fusarium graminearum* از ریشه و طوقه گندم‌های آلوده کشت داده شده در روی محیط کشت PDA جدا شد. و برای جداسازی جدایه‌های تریکودرما، نمونه‌های خاک ناحیه ریزوسفری، به

Archive of SID

www.SID.ir

مدت هشت روز در دمای اتاق خشک شدند. سپس نمونه‌های خشک شده به‌طور سریالی با آب مقطررقیق شدند (ویج ساندرا و همکاران، ۱۹۹۱). پس از رقیق سازی، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های 10^{-4} تا 10^{-6} را به طور جداگانه روی محیط کشت انتخابی مک فادن و ساتن (مک فادن و ساتن، ۱۹۷۵)، کشت داده شدند.

در بررسی‌های اولیه ۱۸ جدایه *F. graminearum* و ۱۵ جدایه از گونه‌های مختلف تریکودرما از گیاهان آلوده گندم و نمونه‌های خاک جدا شدند. بیماریزایی جدایه‌های *F. graminearum* بر روی گندم رقم تجن انجام شد و بیماریزاترین آن (F3) برای مطالعات بعدی انتخاب گردید. همه جدایه‌های آنتاگونیست و بیمارگر در روی محیط کشت عصاره سیب زمینی – آگار در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

شناسایی گونه‌های بیمارگر و آنتاگونیست بر اساس خصوصیات مورفول ریخت‌شناسی وژیکی پرگنه‌ها، اندازه گیری ابعاد قطر هیف، کنیدیوفور و کنیدی انجام شد (نلسون و همکاران، ۱۹۹۳؛ ریفای، ۱۹٦۹؛ بی ست، ۱۹۹۱). به‌منظور تولید پریتس‌های *Gibberella zea* در شرایط آزمایشگاه، کاه و کلش استریل شده گندم روی قارچ *F. graminearum* (F3) در تشتک‌های محتوی PDA قرار گرفت (نلسون و همکاران، ۱۹۸۳).

تاثیر جدایه‌های تریکودرما روی رشد میسلیومی *F. graminearum* (F3): برای ارزیابی تاثیر جدایه‌های تریکودرما روی بیمارگردر شرایط آزمایشگاه از روش کشت دوتایی و پوشش سلوفان استفاده شد (دنیس و وبستر، ۱۹۷۱) برای این منظور همه آنتاگونیست‌ها با قارچ بیمارگر به‌صورت دو به دو درداخل تشتک‌های ۸۰ میلی متری حاوی ۱۵ میلی لیتر PDA کشت گردیدند.

برای کشت دوتایی یک بلوک میسلیومی به قطر پنج میلی متر از حاشیه پرگنه‌های سه روزه در حال رشد هر یک ازجدایه‌های تریکودرما و بیمارگر، جدا و به فاصله چهار سانتی متری از هم روی محیط آگار دار قرار داده شدند. در ارتباط با روش سلوفان، یک غشاء سلوفانی به قطر هشت سانتی متر(سلوفان استرالیایی، ویکتوریا)، را ابتدا در آب مقطر به مدت نیم ساعت جوشانده و قبل از قرار دادن روی محیط کشت آگاردار در بین کاغذ فیلتر قرار داده در اتوکلاو سترون شد. سپس بلوک‌های میسلیومی به قطر پنج میلی‌متر از حاشیه پرگنه‌های سه روزه آنتاگونیست‌های در حال رشد در وسط این غشاء قرار داده شد و برای تیمار شاهد، یک بلوک سترون PDA بجای آنتاگونیست‌ها استفاده گردید. بعد از ٤۸ ساعت غشای سلوفانی همراه با قارچ چسبیده به آن و یا قطعه آگار (در تیمار شاهد)

Archive of SID

www.SID.ir

برداشته شد (اعتباریان و همکاران، ۲۰۰۰). و برای فعالیت ضد قارچی جدایه‌های تریکودرما، یک بلوک میسلیومی به قطر ۵ میلی متر تلقیح شده با *F. graminearum* به تشتک‌های فوق انتقال داده شد و تشتک‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ودر شرایط تاریکی نگهداری شدند. بعد از هفت روز ناحیه بازدارندگی رشد اندازه‌گیری و با شاهد مقایسه شد و درصد بازدارندگی رشد با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (GI: درصد بازدارندگی از رشد، a : میانگین قطر رشد قارچ پرگنه *F. graminearum* در تیمار شاهد و b: میانگین قطر رشد قارچ در تیمار مورد بررسی)

$$GI = a-b/a\times100$$ رابطه (۱)

لازم به ذکر است که قطر پرگنه بیمارگر به صورت میانگین دو اندازه‌گیری ناحیه محاسبه شده در نظر گرفته شد. این مطالعات در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد.

همچنین به منظور بررسی تاثیر متابولیت‌های فرار تولید شده توسط جدایه‌های آنتاگونیست تریکودرما بر بیمارگر، آزمونی بر اساس روش دنیس و وبستر(۱۹۷۱)، طراحی و اجرا گردید. سپس یک دیسک پنج میلی‌متری از حاشیه فعال پرگنه‌های قارچی سه روزه آنتاگونیست و بیمارگر به‌طور جداگانه در مرکز تشتک‌های هشت سانتی‌متری حاوی محیط PDA کشت شد. پس از برداشت درب پتری‌ها، تشتک‌های حاوی بیمارگر برروی تشتک‌های حاوی آنتاگونیست قرار داده شده و دور تشتک‌ها با نوار پارافیلم مسدود گردید. در تیمار شاهد به جای آنتاگونیست از دیسک پنج میلی‌متری محیط PDA استفاده شد. تشتک‌ها به‌مدت سه روز در دمای ۲۱ در تاریکی قرار داده شدند. میزان بازدارندگی از رشد شعاعی بیمارگر بر اساس فرمول فوق محاسبه و یادداشت گردید. آزمون در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد.

کنترل زیستی *F. graminearum* (F3) گندم در گلخانه: برای انجام آزمایشات گلخانه‌ای سه جدایه تریکودرما (*T. harzianum* 2, *T. harzianum* 10, *T. harzianum*12)، که در شرایط آزمایشگاهی بیشترین تاثیر را داشتند انتخاب شدند.

آنتاگونیست‌های انتخاب شده برای بررسی توانایی کاهش وقوع و شدت پوسیدگی فوزاریمی در گندم مورد آزمایش قرار گرفتند. برای تکثیر *F. graminearum* (F3) و جدایه‌های تریکودرما، ابتدا روی محیط PDA به‌مدت یک هفته کشت داده شدند. سپس محیط کشت قارچ فوزاریم به قطعات دوسانتی متر مربعی تقسیم و به فلاسک‌های درپوش دار ۲۵۰ میلی لیتری حاوی ۱۰۰ گرم ماسه، پنج

Archive of SID

www.SID.ir

گرم آرد ذرت و ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل و محیط کشت قارچ تریکودرما به فلاسک‌های در پوش‌دار ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۰۰ گرم سبوس گندم مرطوب انتقال داده شد. سپس بسترهای تلقیح شده در دمای اتاق به مدت سه هفته نگهداری شد تا تمام سطح بستر از قارچ فوزاریم و تریکودرما پوشانده شود.

هر یک از دو قارچ فوزاریم و تریکودرما با خاک گلدان ضدعفونی شده، به میزان ۱۵ گرم برای هر کیلو خاک مخلوط شدند (اعتباریان و همکاران، ۲۰۰۰). بذر گندم رقم تجن با غوطه‌ور شدن در محلول هیپوکلریت سدیم ۱ درصد برای دو دقیقه ضد عفونی و سپس سه بار با آب مقطر استریل شستشو شدند ودر گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۲۰ سانتی متر در خاک تیمار شده کاشته شدند. تیمارها عبارت بودند از:

۱) *F* (3 ، *T. harzianu*m 10+ . *graminearum* (F3) ۲) ، *T. harzianu*m 2+ *F. graminearum* (F3) ، *T. harzianu*m 12+. *graminearum* (F3) ٤) شاهد آلوده، *F . graminearum* (F3) و ۵) شاهد سالم. خاک (ضدعفونی شده)

گلدان‌ها به‌مدت ۱۰ هفته در گلخانه ایستگاه تحقیقات زراعی قراخیل با دمای ۲۵±۷ درجه سانتی‌گراد و نور طبیعی نگهداری شدند. در پایان،۱۰ بوته از هر تیمار از گلدان خارج نموده و پس از بررسی ریشه‌ها، بوته‌های آلوده و سالم را شمارش ومیزان بروز بیماری تعیین گردید.

همچنین برای تعیین شدت آلودگی مطابق روش سینگلتون و همکاران (۱۹۹۲)، ۱۰ بوته مایه‌زنی شده از هر تیمار برداشته شد و ریشه‌های این نمونه‌ها با آب فراوان شسته و به قطعات کوچکی تقسیم شدند (ریشه هر بوته به ۱۰ قطعه و مجموعا ۱۰۰ نمونه). این قطعات با هیپوکلریت سدیم ۰/۵ درصد به مدت دو تا سه دقیقه ضدعفونی سطحی شده و پس از آب گیری با حوله کاغذی سترون نمونه‌ها روی محیط PDA کشت داده شدند. پس از گذشت دو تا سه روز تعداد ریشه‌هایی که پرگنه قارچ فوزاریم از آن‌ها جدا شده بود شمارش و به تعداد کل ریشه‌های برداشت شده (۱۰ ریشه گیاه در هر تیمار) تقسیم شد؛ برای محاسبه شدت بیماری ضریب حاصل در درصد بروز بیماری در هر تیمار ضرب گردید. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد.

کنترل زیستی (F3) ***F. graminearum* گندم در مزرعه:** برای تایید آزمایش‌های گلخانه‌ای، آنتاگونیست‌های انتخاب شده دوباره در شرایط مزرعه در ایستگاه تحقیقات زراعی قراخیل مورد بررسی قرار گرفتند. همه تیمارها مشابه آزمایش‌های گلخانه‌ای بود به جزء طرح آزمایش که در قالب

Archive of SID

www.SID.ir

بلوک کامل تصادفی در چهار تکرار انجام پذیرفت. هر کرت مورد آزمایش شامل پنج خط سه متری با فاصله ۳۰ سانتی‌متری بوده و فاصله کرت‌ها و همین‌طور بلوک‌ها از یکدیگر ۱/۵ متر در نظر گرفته شد (لیتل و هیلز، ۱۹۷۸). برای کاشتن بذرها ابتدا شیار در آورده و پس از کاشتن بذرها با خاک مایه‌زنی شده با تریکودرما و فوزاریم مطابق با آنچه در آزمایشات گلخانه‌ای شرح داده شد خاک‌دهی شدند. بذرهای کاشته شده در تیمار شاهد سالم، با خاک سترون پوشانده شدند و میزان بروز و شدت بیماری در زمان نزدیک به مرحله برداشت محصول، مطابق با آنچه در بند فوق شرح داده شد، انجام پذیرفت. تجزیه واریانس با برنامه SAS و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن استفاده شد.

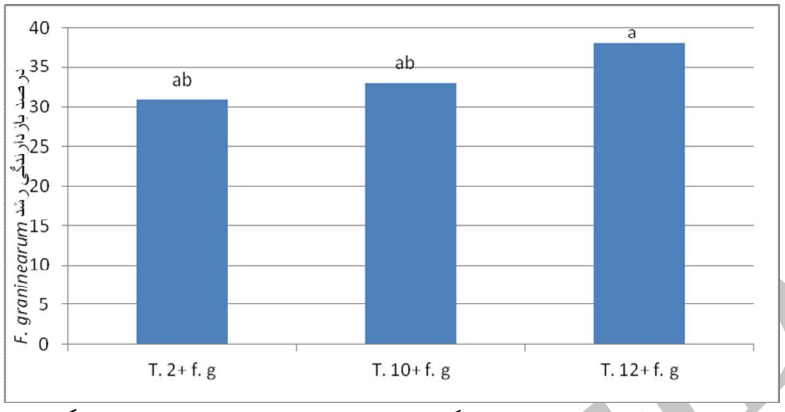
نتایج و بحث

تاثیر جدایه‌های تریکودرما روی رشد میسلیومی *F. graminearum* (F3) در شرایط آزمایشگاه: هر چند تفاوت معنی‌داری میان جدایه‌های مختلف تریکودرما وجود داشت، ولی همه جدایه‌ها توانایی بازدارندگی رشد *F. graminearum* در کشت‌های دوتایی را داشتند. جدایه‌های تریکودرما شماره ۲، ۱۰و ۱۲ توانستند به ترتیب به میزان ٤٨/٦٣، ٥١/٢ و ٥٨/٨ درصد در رشد قارچ *F. graminearum* (F3) بازدارندگی ایجاد نمایند (شکل ۱).

در کشت دوتایی همه جدایه‌های تریکودرما توانایی بازدارندگی رشد *F. graminearum* (F3) را داشتند.هاله عدم رشد بین پرگنه‌های بیمارگر و جدایه‌های تریکودرما مشاهده شد. هاله عدم رشد می‌تواند به علت اثر مواد بازدارنده تولید شده توسط گونه‌های تریکودرما باشد که سبب بازدارندگی رشد *F. graminearum* می‌شود. حضور و اندازه ناحیه مهار شده رشد به‌عنوان شواهدی از تولید آنتی‌بیوتیک توسط گونه‌های تریکودرما محسوب می‌شود (جکسون و همکاران، ۱۹۹۱؛ کراوفورد و همکاران، ۱۹۹۳).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- تاثیر جدایه‌های تریکودرما روی بازدارندگی رشد میسلیومی *F. graminearum*. میانگین‌های با حروف مشابه مطابق با آزمون چند دامنه‌ای دانکن، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

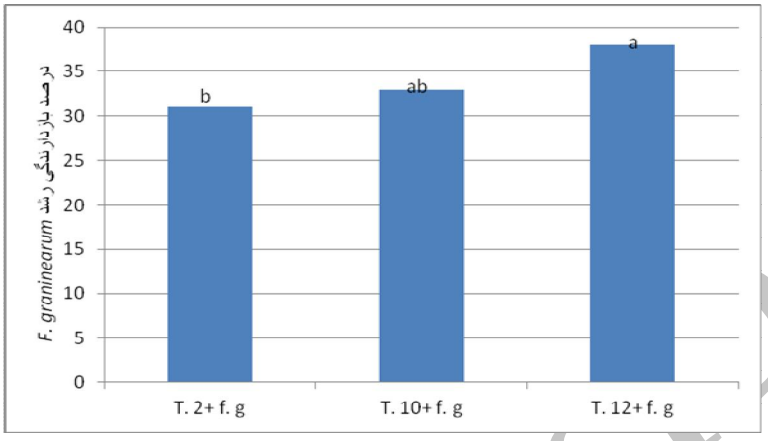
متابولیت‌های آزاد سلولی *T. harzianum*(2)، *T. harzianum*(10) و *T. harzianum*(12) توانستند میزان رشد میسلیومی *F. graminearum* را در شرایط آزمایشگاه به‌ترتیب به میزان ۲۹، ۳۹، ٤۱، ۱۸، ۳۷ و ۲۰ درصد به ترتیب کاهش دهند (شکل ۲).

متابولیت‌های آزادسلولی تولید شده توسط گونه‌های تریکودرما نیز می‌تواند میزان رشد *F. graminearum* (F3) را کاهش دهد. اگر چه روش سلوفان به‌طور عمده برای تحقیق در مورد متابولیت‌های غیر فرار قارچ تریکودرما استفاده می‌شود (جکسون و همکاران، ۱۹۹۱؛ دنیس و وبستر، ۱۹۷۱). هر چند آنتی بیوتیک‌های تولید شده از جدایه‌های تریکودرما در این مطالعه جداسازی و شناسایی نشدند اما بعضی از آنتی‌بیوتیک‌ها همچون توبرسیدین[1]، کاندیسیدین[2]، فسفولاکتومایسین[3]، فناسین[4] و ٤-دی استیل فلوروگلوسینول[5] که به وسیله بعضی از آنتاگونیست‌ها همچون *Pseudomonas flourescens*, *Streptomyces* spp. and *Trichoderma* spp. تولید می‌شوند به وسیله بعضی از محققان گزارش شده است (هانگ و همکاران، ۱۹۹٤؛ فوشیمی و همکاران، ۱۹۸۹؛ مازولا و همکاران، ۱۹۹۲).

1. Tubercidin
2. Candicidin
3. Phosphlactomycin
4. Phenasin
5. 4-diacetylphloroglucinol

Archive of SID

www.SID.ir



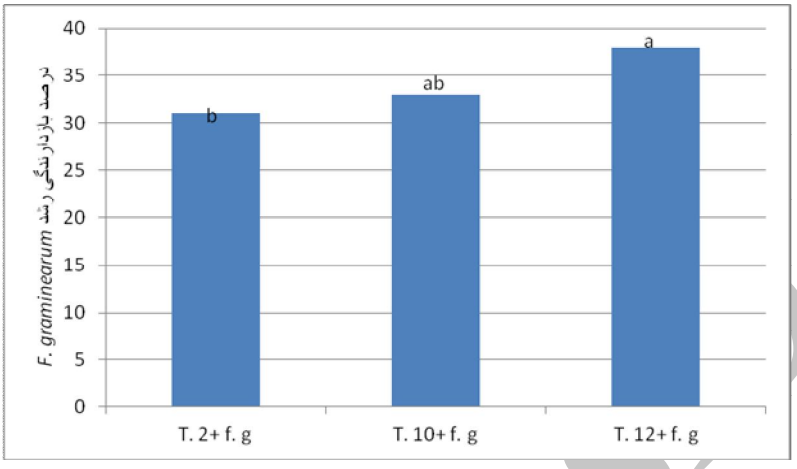
شکل ۲- تاثیر متابولیت‌های آزاد سلولی جدایه‌های تریکودرما روی بازدارندگی رشد میسلیومی *F. graminearum* (روش سلوفان). میانگین‌های با حروف مشابه مطابق با آزمون چند دامنه‌ای دانکن، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند.

تاثیرفعالیت ضد قارچی مواد فرار در میان گونه‌های تریکودرما در مهار رشد *F. graminearum* متفاوت بود. کاهش درصد رشد میسلیومی *F. graminearum* با ترکیبات ضد قارچی فرار *T. harzianum* (12) به‌طور قابل توجهی بیشتر از سایر گونه‌های تریکودرما بود (شکل ۳).

نتایج فعالیت متابولیت‌های فرار نشان داد که درصد کاهش رشد *F. graminearum*(F3) با جدایه‌های تریکودرما، با مواد فرار باسیلوس‌ها روی *Pythium ultimum* و *Rhizoctonia solani* *ارتباط نزدیکی* دارد (فیدمن و روزال، ۱۹۹۳). لندی و همکارانش (۱۹٤۸)، همچنین دو گروه آنتی بیوتیک با خاصیت ضد باکتریایی و ضد قارچی از باکتری *B. subtilis* گزارش نمودند.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۳- تاثیر فعالیت ضد قارچی متابولیت‌های فرارجدایه‌های تریکودرما روی بازدارندگی رشد میسلیومی *F. graminearum* . میانگین با حروف مشابه مطابق با آزمون چند دامنه‌ای دانکن، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

کنترل زیستی *F. graminearum* روی گندم در شرایط گلخانه و مزرعه: نتایج حاصل از این تحقیق در شرایط گلخانه نشان که درصد وقوع و شدت بیماری در تیمار گندم (F3) *T. harzianum* + *F.graminearum* (T.12)، به میزان قابل توجهی از سایر تیمارها کمتر (شکل ٤) و برعکس، وزن هزار دانه در آن بیشتر از سایر تیمارها بود (شکل ۵)، که نتایج تکمیلی مزرعه‌ای نیز نتایج گلخانه‌ای را تایید نمود (شکل ٦).

تلقیح دانه‌های گندم با جدایه‌های تریکودرما در شرایط گلخانه و بررسی مزرعه‌ای نشان داد که میزان پوسیدگی ریشه و طوقه کاهش و وزن هزاردانه و میزان کل محصول افزایش یافت. تاثیر تلقیح گیاهان گندم با آنتاگونیست‌ها، در کاهش بیماری و افزایش محصول توسط محققان گزارش شده بود. بوچو و فریچ (۱۹۹۱)، گزارش کردند که تلقیح گیاه با *Streptomyces* در گلخانه شدت *Phtophthora infestans* را کاهش داد. این کاهش ناشی از القاء مقاومت بوسیله استرین *Streptomyces* بود. همچنین چندین گزارش در ارتباط با تاثیر تلقیح گیاهان گندم با آنتاگونیست‌های باکتریایی، در کاهش شدت بیماری سوختگی سنبله ناشی از *F. graminearum*(F3) و در نتیجه افزایش محصول گندم گزارش

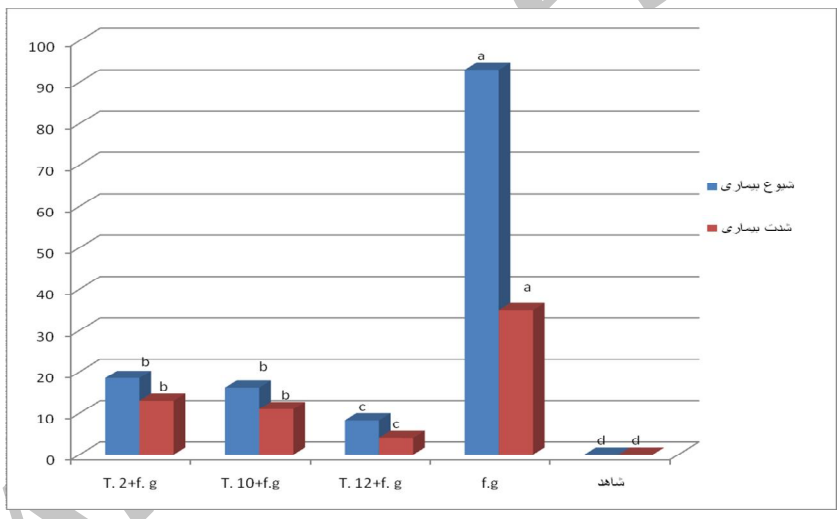
Archive of SID

www.SID.ir

شده است (ال-ابیاد و همکاران، ۱۹۹۳؛ اعتباریان و همکاران، ۲۰۰۳؛ جونز و ساماک، ۱۹۹٦؛ لیو و همکاران، ۱۹۹۵؛ لوز، ۲۰۰۰؛ نوروزیان و همکاران، ۲۰۰٦؛ اخوت و همکاران، ۱۹۹٦).

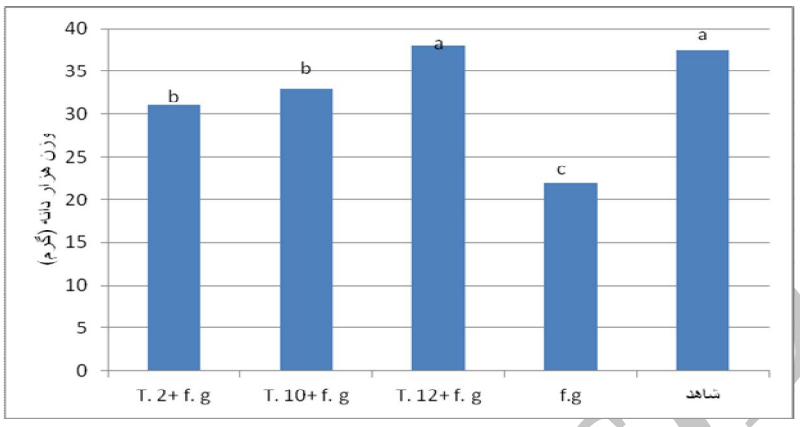
فروتن و همکاران (۲۰۰۵)، طی استفاده از جدایه‌های *Bacills subtilis* و *Pseudomonas fluorescens* علیه فوزاریم خوشه گندم، مشاهده نمودند که درصد وقوع بیماری در شرایط گلخانه و شدت بیماری تحت شرایط مزرعه به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش پیدا کرد.

بعضی از جدایه‌های *Streptomyces* spp. به فرم تجارتی به صورت آفت کش‌های ثبت شده روی بعضی از محصولات جهت کنترل زیستی بعضی از بیماری‌ها موجود می باشند (جونز و ساماک، ۱۹۹٦). به هر حال جدایه‌های تریکودرما آزمایش شده در این مطالعه قبل از اینکه به فرم تجاری در بیایند باید جهت تولید آنتی بیوتیک‌های مختلف باید برای سلامت غذا آزمایش شوند.

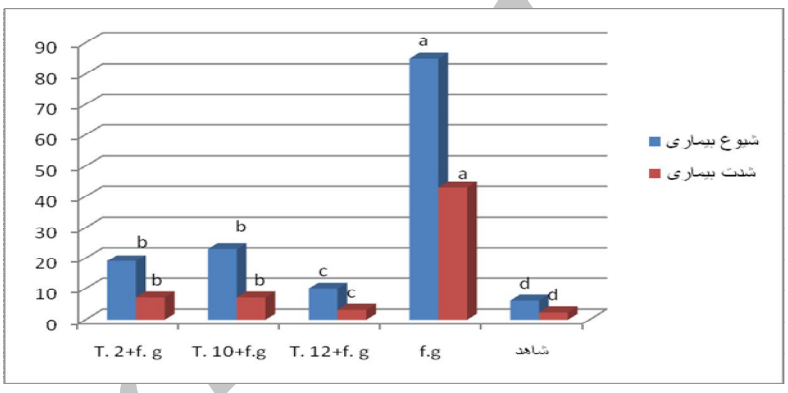


شکل ٤- تاثیر جدایه‌های تریکودرما روی درصد وقوع و شدت بیماری در شرایط گلخانه. میانگین‌های با حروف مشابه مطابق با آزمون چند دامنه‌ای دانکن، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ٥ درصد نداشتند.

www.SID.ir



شکل ٥- تاثیر جدایه‌های تریکودرما در وزن هزار دانه در شرایط گلخانه. میانگین‌های با حروف مشابه مطابق با آزمون چند دامنه‌ای دانکن، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ٥ درصد نداشتند.



شکل ٦- تاثیر جدایه‌های تریکودرما روی شیوع و شدت بیماری در شرایط مزرعه. میانگین‌های با حروف مشابه مطابق با آزمون چند دامنه‌ای دانکن، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ٥ درصد نداشتند.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کارشناسان آزمایشگاه تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع‌طبیعی مازندران جهت همکاری در این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

www.SID.ir

منابع

1. Araqi, 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. (In Persian)
2. Bissett, J. 1991. A revisionof the genus *Trichoderma* b. Additoinal notes on section Longibrachiatum. Can. J. Bot. 69: 2418-2420.
3. Bochow, H. and Fritzche, S. 1991. Induction of phytoalexine biosynthesis of culture filtrate of bacterial antagonists. Bullet. of Organisational Internationale de Lutte Biologique Contre les Animaux et les Plantes Nuisible (OILB)-SROP, 14: 158-161.
4. Bujold, I., and Paulits, T.C. 2001. Effect of Microsphaeropsis sp. on the Production of Perithecia and Ascospores of *Gibberella zeae*. Plant Dis. 85:977-984.
5. Buns, J.R. and Benson, D.M. 2000. Biocontrol of Damping-off of Catharanthus roseus Caused by *Pythium ultimum* with *Trichoderma virens* and *Binucleate Rhizoctonia* fungi. Plant Dis. 48: 644-648.
6. Cook, R.J. 1968. *Fusarium* root and foot rot of cereals in the Pacific Northwest. Phytopathol. 58: 127-131.
7. Cook, R.J., and Bruehl, G.W. 1968. Relative significance of parasitism versus saprophytism in colonization of barley straw by *Fusariumroseum* 'culmorum' in the field. Phytopath. 58: 306-308.
8. Crawford, D.L., Lynch, J.M., Whipps J.M. and Osley, M.A. 1993. Isolation and Characterization of Actinomycete Antagonists of a Fungal Root Pathogen. Appl. Environ. Microbiol. 59: 3899-3909.
9. Dennis, C. and Webster, J. 1971. Antagonistic properties of species groups of Trichoderma. I. Production of non-volatile antibiotics. Trans. Brit. Mycol. Soc., 57: 25-39.
10. El-Abyad, M.S., El-Sayed, M.A., El-Shanshoury, A.R. and El-Batanouny, N.H. 1993. Inhibitory effect of UV mutants of *Streptomyces corchorusii* and *Streptomyces spiroverticillatus* on bean and banana wilt pathogens. Can. J. Bot. 71:1080-1086.
11. Etebarian, H.R., Scott, E.S. and Wicks, T.J. 2000. *Trichoderma harzianum* T39 and *T. virens* DAR 74290 as potential biological control agents for *Phytophathora erythroseptica*. Eur. J. Plant Pathol. 106: 329-337.
12. Fiddaman, P.J. and Rossall, S. 1993. The production of antifungal volatile by *Bacills subtilis*. J. Appl. Bacteriol. 74: 119-126.
13. Foroutan, A., Yasari, E. and Foroutan, A. 2007. Effect of *psuedomonas* on wheat fusarium root rot. J. Microbial. World. 9:27-33.
14. Foroutan, A., Rahimian, H. and Alizadeh, A. 2005. Effect of antagonistic bacteria on *Fusarium* head blight of wheat. Iranian J. Plant Path. 41: 455-475.

Archive of SID

www.SID.ir

15. Harman, G.E., Latorre, B., Agosin, E., San Martin, R., Riegel, D.G., Nielsen, P. A., Tronsmo, A. and Pearson, R.C. 1990. Biological and integrated control of *Botrytis* bunch rot of grape using *Trichoderma* spp. Biol. Control. 7: 259-266.
16. Hjelijord, L.G., Stensvand, A. and Transmo, A. 2001. Antagonism of nutirient-activated Conidia of *Trochoderma harzianum* (atroviridae) P1 against *Bortytis cinerea*. Phytopathol. 91: 1172-1180.
17. Hwang, B.K., Ahn, S.J. and Moon, S.S. 1994. Production, purification, and antifungal activity of the antibiotic nucleoside, tubercidin, produced by Streptomyces violaceoniger. Can. J. Bot. 72: 480-485.
18. Jacson, A.M., Whibs, J.M. and Lynch, J.M. 1991. *In vitro* screening for Identification of potential biocontrol agent of *Allium* white rot. Mycol. Res. 95: 430-434.
19. Janisiewicz, J.W. and Korsten, L. 2002. Biological control of postharvest diseases of fruits. Ann. Rev. Phytopathol., 40: 411-441.
20. Jones, C.R. and Samac, D.A. 1996. Biological control of fungi causing alfalfa seedling damping-off with a disease-suppressive strain of Streptomycin. Biol. Control, 7: 196-204.
21. Krause, M.S., Madden, L.V. and Hortink, A.J. 2001. Effect of Potting Mix Microbial Carrying Capacity on Biological Control of *Rhizoctonia* Damping-off of Radish and *Rhizoctonia* crown and root rot of poinsettia. Phytopathol. 91: 1116-1123.
22. Landy, M., Warren, G.H., Rosenman, S.B. and Clolis, L.G. 1948. Bacillomycin an antibiotic from *Bacillus subtilis* active against pathogenic fungi. Proc. Soc. Exp. Biol., 67: 539-541.
23. Lechevalier, H., Acker, R.F. Coke, C.T., Haenseler, C.M. and Waksman, S.A. 1953. Canadian new antifungal antibiotic. Mycologia, 45: 155-171.
24. Little, T.M. and Hills, F.J. 1978. Agricultural Experimentation Design and Analysis. John Wiley and Sons, New York, USA, pp: 350.
25. Liu, H., Pan, X., and Wang, J. 1995. Experiments on Bacillus strain producing antagonistic protein. Chinese J. Biol. Control, 11: 160-164.
26. Lumsden, R.D., Ridout, C.J., Vendemia, M.E., Harrison, D.J., Waters, R.M. and Walter, J.F. 1992. Characterization of major secondary metabolites produced in soilless mix by a formulated strain of the biocontrol fungus *Gliocladium virens*. Can. J. Microbiol. 38: 1274-1280.
27. Luz, W.C. da 2000. Biocontrol of fusarium head blight in Brazil. Proceedings of 2000. National Fusarium Head Blight, pp 77-81.
28. Mazzola, M., Cook, R.J., Thomashow, L.S., Weller, D.M. and Pierson, L.S. III. 1992. Contribution of phenasine antibiotic biosynthesis to the ecological competence of *pseudomonads fluorescent* in soil habitats. Appl. Environ. Mirobiol. 58: 2616-2624.

Archive of SID

www.SID.ir

29. McFadden, A.G., suttun, J.C. 1975. Relationship of populations of *Trichoderma* spp. In soil to disease in maize. Can. J. Plant Sci. 55: 579-586.
30. Nelson, D. E., Toussoun, T.A., and Maracas, W.F.O. 1983. Fusarium species: An illustrated manual for identification, The Pennsylvania State University press. pp. 128-141.
31. Nelson, D.E., Desjardins, A.E., and Plattner, R.D. 1993. Fumonisins, mycotoxins produced by Fusarium species: biology, chemistry and significance. Ann. Rev. Phytopathol. 31: 233-252.
32. Nourozian, J., Etebarian, H. and Khodakaramian, G. 2006. Biological control of *Fusarium graminearum* on wheat by antagonistic bacteria. Songklanakarin J. Sci. Technol. 28: 29-38.
33. Okhovat, M., Zafari, D., Karimi, A.R. and Rohani, H. 1996. Evaluation of Antagonistic effects of *Trichoderma* spp. on *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) hughes isolated from potato. Iranian J. Plant Pathol. 32:208-217. (In Persian).
34. Parry, D.W., Jenkinson, P. and Mcleod, L. 1995. *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals. Rev. Plant Patholol., 44: 207-238.
35. Rifai, M.A. 1969. A revision of the genus Trichoderma. Commonow. Mycol. Inst. Mycol. Pp: 116-156.
36. Samuels, G.J. 1996. *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the Genus. Mycol. Res.100: 923-935.
37. Shanahan, P.O., Sullivan, D.J., Simpson, P., Gleonnon, J.D., and O'Gara, F. 1992. Isolation of 2, 4-diacetylphloroglucinol from a fluorescent pseudomonad and investigations of physiological parameters influencing its production. Appl. Environ. Mirobiol. 58: 353-358.
38. Singleton, L.L., Mihail, D., and Rush, C.M. 1992. Methods for Research on soilborne Phytopathogenic Fungi. APS Press, USA., 265 pp
39. Sivasithamparam, K., Parker, G.A., and Edeards, C.S. 1979. Rhizosphere Microorganisms of seminal and nodal roots of wheat grown in pots. Soil Biol. Biochem. 11: 155-160.
40. Wijesundera, R.L.C., Jeganathan, S., and Liyanage, N.I.S. 1991. Some affects of isolates of *Trichoderma* on rigidiporus lignosus. Sri Lanka J. Rubber Res. Instit. 71: 45-50.

Archive of SID

www.SID.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. Plant Prod. Res. Vol. 22 (1), 2015
http://jopp.gau.ac.ir

Biological control of the wheat root rot caused by *Fusarium graminearum* by using fungal antagonists in Mazandaran province

H. Barari*
Assistant Prof., Agricultural and Natural Resources Research Center of Mazandaran province
Accepted: 23-7-2014 ; Received: 1-12-2014

Abstract

Fusarium root and foot rot of wheat is caused by the fungus *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*). This disease causes significant yield loss under infested soil and favourable condition. The aim of this study was to evaluate the efficacy of selected fungus strains against the wheat soil-borne pathogen *F. graminearum* under greenhouse and field conditions. The most potent isolates were 3 isolates (all of isolates were identified as *Trichiderma harzianum*) out of 15 isolates, which have numbers 2, 10 and 12. These isolates were selected for the following experiments. Mycelial growth of *F. graminearum* (F3) was reduced by cell free and volatile metabolites of *Trichoderma harzianum* strains. *T. harzianum* strains 12 significantly ($P \leq 0.5$) reduced the incidence (8.3%) and severity (4.1%) of disease, 35 days after inoculation and increased the 1000 grain weight (38 g) in greenhouse conditions. For confirmation of the greenhouse tests, the selected antagonists were reexamined in field trials. This strain could also reduce the disease incidence (10%) and severity (3.1%).

Keywords**:** *Fusarium graminearum, Trichoderma harzianum*, biocontrol, wheat

*Corresponding author; hosseinbarari1385@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir