بقای *Macrophomina phaseolina* و سایر قارچ‌های همراه در بقایای سویا و تاثیر *Trichoderma harzianum* بر تغییرات جمعیت آن‌ها

فاختک طلیعی[1]، ناصر صفایی[2*] و محمدعلی آقاجانی[3]

[1] دانشجوی دکتری گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه تربیت مدرس
[2] دانشیار گروه بیماری‌شناسی گیاهی، دانشگاه تربیت مدرس
[3] استادیار پژوهش بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان
* مسئول مکاتبه: nsafaie@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: 91/4/10 تاریخ پذیرش: 91/7/20

چکیده

قارچ *Macrophomina phaseolina* یکی از بیمارگرهای مهم سویا و عامل پوسیدگی ذغالی در مناطق عمده کشت سویا در ایران و جهان است. در این مطالعه دو ساله، بقای *M. phaseolina* و سایر قارچ‌های همراه بقایای سویا و نیز تاثیر *Trichoderma harzianum* بر تغییرات جمعیت قارچ‌ها طی زمان، در شرایط محیطی استان گلستان مورد بررسی قرار گرفت. در سال اول، بقایای سویای آلوده به *M. phaseolina* در پاکت‌های پلی‌پروپیلنی منفذدار قرار داده شد و در سه عمق 5-0، 15-10 و 25-20 سانتی‌متری در دو خاک آلوده به *M. phaseolina* و غیرآلوده مدفون گردید. نمونه‌ها طی هشت ماه و در فواصل زمانی دو ماهه از خاک خارج شده و مورد بررسی قرار گرفتند. بر اساس نتایج به دست آمده، درصد فراوانی جداسازی *M. phaseolina*، روند کاهشی خطی و کندی طی زمان داشته و بعد از هشت ماه از 93/3 درصد به 73/6 درصد رسید. هم‌چنین فراوانی *Trichoderma* spp. طی زمان به صورت خطی و به میزان شش درصد افزایش یافت. فراوانی جداسازی *M. phaseolina* در دو نوع خاک و در اعماق مختلف مشابه بود. در سال دوم، پاکت‌های محتوی بقایای سویای آلوده، در دو خاک آلوده و سترون که با زادمایه *Trichoderma harzianum* MKR 1321 مایه‌زنی شده بود (+T) مدفون گردید و با تیمار شاهد بدون مایه‌زنی (-T) مورد مقایسه قرار گرفت. درصد فراوانی *M. phaseolina* طی زمان، در تیمار +T، 77/5 درصد کاهش یافت در حالی که این میزان در تیمار -T برابر 11/2 درصد بود. هم‌چنین سترون یا آلوده بودن خاک تاثیری بر فراوانی جداسازی آن نداشت. فراوانی جداسازی *Trichoderma* spp. در تیمار +T پس از هشت ماه 93/9 درصد افزایش یافت. افزایش فراوانی جداسازی *Trichoderma* spp. به موازات کاهش فراوانی *M. phaseolina* و سایر قارچ‌ها رخ داد. این نتایج نشان می‌دهد که نقش ترکیبی *T. harzianum* به عنوان مایکوپارازیت و تجزیه‌کننده قوی مواد گیاهی، سبب کاهش بقای *M. phaseolina* و سایر قارچ‌های همراه در بقایای گیاهی مدفون در خاک می‌شود.

واژه‌های کلیدی: پوسیدگی ذغالی سویا، *Macrophomina phaseolina*، *Trichoderma harzianum*

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

پوسیدگی ذغالی که توسط قارچ *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich ایجاد می‌شود، یکی از بیماری‌های مهم سویا *Glycine max* (L.) Merrill در مناطق عمده کشت سویا در ایران و جهان است. استان گلستان با 58 هزار هکتار سطح زیر کشت سویا در سال زراعی 1389، یکی از مناطق عمده تولید سویا در کشور است. *M. phaseolina* یک قارچ خاک‌زاد است که اغلب قادر به رشد ساپروفیتی در خاک یا روی بافت‌های مرده‌ی گیاهی نمی‌باشد (نورتون 1953). زمستان‌گذرانی بیمارگر به صورت میکرواسکلرت و در ابتدا در بقایای ریشه و ساقه سویا می‌باشد که پس از تخریب آن‌ها وارد خاک می‌گردد (شورت و همکاران 1980). کوک و همکاران (1973) نشان دادند که 16 ماه پس از شروع مطالعه، 23 درصد میکرواسکلرت‌های تشکیل شده در بقایای گیاهی سورگوم قادر به جوانه‌زنی می‌باشند. هم‌چنین میکرواسکلرت‌های جدا شده از میزبان‌های مختلف تا چندین سال دوام می‌آورند (دینگرا و سینکلر 1977). نتایج یک مطالعه در آمریکا نشان داده است که قدرت بقای میکرواسکلرت‌ها دو سال است، اما درصد جوانه‌زنی در سال اول بیشتر است (شورت و همکاران 1980). جمعیت میکرواسکلرت‌های *M. phaseolina* در خاک در صورت تداوم کشت ارقام حساس سویا افزایش می‌یابد.

بقایای گیاه سویا منبع مهمی برای زادمایه بسیاری از قارچ‌های بیماری‌زا از جمله *Phomopsis* spp.، *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* و *M. phaseolina* می‌باشد (ری و همکاران 2001). تخریب زیستی بقایای گیاهی به عوامل مختلفی مانند دما و رطوبت بستگی دارد که به طور مستقیم بر فعالیت میکروارگانیسم‌ها تاثیر می‌گذارند (برد و همکاران 1999). قارچ‌های ساپروفیت و پارازیت که بر روی بقایای محصولات مختلف مانند بادام‌زمینی، پنبه، کلزا و سویا زمستان‌گذرانی می‌کنند، بخش عمده میکروفلور خاک را تشکیل می‌دهند (برد و همکاران 2003). بقای قارچ‌های بیمارگر روی بقایای گیاهی سبب افزایش شدت و وقوع بیماری می‌گردد به‌ویژه زمانی که زمین شخم نخورده یا به طور پیوسته زیر کشت محصولات مختلف قرار داشته باشد (برد و همکاران 1993).

اقدامات زراعی بر اندازه بقایای گیاهی و پراکنش آن‌ها در سطح خاک پس از برداشت موثر است. بقایای گیاهی موجود در سطح خاک و یا زیر خاک بر تنوع و تراکم قارچ‌های ساپروفیت و پارازیت موثرند (برد و همکاران 2003). مطالعات نشان داده است که فراوانی *Rhizoctonia solani*، *Leptosphaeria maculans* و *M. phaseolina* بعد از دفن بقایای گیاهی و طی زمان کاهش یافته است در حالی که جمعیت *Trichoderma* spp. طی زمان افزایش می‌یابد (برد و همکاران 1993؛ برد و همکاران 1999؛ برد و همکاران 2003؛ ناصری و همکاران 2008). اما مشخص نیست که آیا *Trichoderma* spp. تاثیر معنی‌داری بر تخریب بقایای گیاهی و بیوکنترل بیمارگرها از جمله *M. phaseolina* داشته باشد. تاکنون، میزان بقای *M. phaseolina* در بقایای گیاهی سویا در ایران مورد مطالعه قرار نگرفته است. تشکیل میکرواسکلرت یکی از سازوکارهای مهم بقای قارچ *M. phaseolina* است. این ساختار مقاوم تنها تحت تاثیر فاکتورهای محیطی و یا سایر میکروارگانیسم‌ها از بین می‌رود. در غیر این صورت جوانه زده و سبب آلوده‌سازی بافت میزبان در فصل آینده می‌شود (دینگرا و سینکلر 1977). بنابراین چنانچه بتوان بقای این عامل را در بقایای گیاهی کاهش داد، می‌توان میزان اسکلرت‌های آزاد شده به خاک و در پی آن مقدار بیماری را در فصل بعد تا حدود زیادی کنترل نمود. بنابراین اطلاع از اهمیت بقایای ریشه سویا به عنوان منبعی برای زمستان‌گذرانی این بیمارگر، در تعیین راه‌بردهای مدیریتی بیماری ضروری است.

هدف این مطالعه بررسی بقای نسبی *M. phaseolina* در بقایای سویا در اعماق مختلف و نیز تعیین سایر قارچ‌های بیمارگر، آنتاگونیست و ساپروفیت همراه با *M. phaseolina* روی بقایای گیاهی سویا در شرایط آب و هوایی استان گلستان است. هم‌چنین امکان کاهش

Archive of SID

www.SID.ir

جمعیت آن در بقایا با استفاده از *Trichoderma harzianum* مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

بقایای سویا رقم حساس ویلیامز، به طول کلی 25 سانتی‌متر، شامل ریشه اصلی و انتهای ساقه متصل به آن، که بر اساس تغییر رنگ واضح بافت و ظهور میکرواسکلرت‌های *M. phaseolina*، آلوده تشخیص داده شدند، از مزرعه تحقیقاتی سویای آلوده به بیماری، واقع در ایستگاه تحقیقات عراقی‌محله گرگان انتخاب گردید. قطعات ریشه به تعداد پنج قطعه درون پاکت‌های پلی‌پروپیلنی منفذدار (اندازه منفذ یک میلی‌مترمربع) به ابعاد 30 × 15 سانتی‌متر قرار داده شد. درب پاکت‌ها مسدود و به مدت 48 ساعت در دمای محیط نگهداری گردید. آزمایش در دو سال به صورت زیر اجرا شد. هر سال پیش از دفن بقایا، 30 قطعه ریشه آلوده به تصادف انتخاب و به آزمایشگاه منتقل شد و جمعیت قارچی طبیعی آن تعیین گردید. به این منظور از هر قطعه ریشه، پنج نمونه یک سانتی‌متری (از ابتدا، انتها و وسط قطعه) جدا شد. نمونه‌ها پس از ضدعفونی در محیط سیب‌زمینی‌دکستروزآگار محتوی 100 میلی‌گرم در لیتر ریفامپیسین و هشت میلی‌گرم در لیتر استرپتومایسین سولفات کشت و به مدت هفت روز در دمای اتاق نگهداری شد. سپس کلیه کلنی‌های میسلیومی ظاهر شده برای شناسایی به محیط سیب‌زمینی‌دکستروزآگار و آب‌آگار منتقل شدند. شناسایی قارچ‌ها بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناختی میکروسکوپی و ماکروسکوپی و با استفاده از کلیدهای بارنت و هانتر (1998) و الیس (1971 و 1976) انجام شد.

آزمایش سال اول

میکروپلات‌هایی به ابعاد 30 × 70 × 50 سانتی‌متر مکعب در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تهیه گردید. میکروپلات‌ها با استفاده از پوشش پلاستیکی ضخیم محصور و برای تخلیه آب اضافی ناشی از بارندگی منافذی در کف آن تعبیه شد. از خاک دو مزرعه دارای سابقه آلودگی به *M. phaseolina* و بدون سابقه کشت محصولات حساس (غیرآلوده) برای پر کردن پلات‌ها استفاده شد. 96 پاکت محتوی 480 قطعه بقایای سویا آماده و در سه عمق 5-0 سانتی‌متر، 15-10 سانتی‌متر و 25-20 سانتی‌متر با چهار تکرار در هر عمق دفن گردید.

پاکت‌های مربوط به اعماق مختلف پس از دفن در تاریخ 30 آبان سال 1388، در فواصل زمانی دوماهه (از 30 دی 88 تا 30 تیر ماه 89) از خاک خارج و به آزمایشگاه منتقل شد. این دوره زمانی شامل فاصله برداشت سویا در استان تا زمان کشت مجدد آن در سال بعد می‌باشد. در آزمایشگاه، ابتدا پاکت‌ها به مدت یک ساعت با جریان آب شست‌وشو داده شد تا بقایای گیاهی و خاک اضافی سطح آن‌ها حذف گردد. سپس بقایای گیاهی از داخل پاکت‌ها خارج و پنج نمونه یک سانتی‌متری از آن‌ها جداسازی گردید. کشت نمونه‌ها و شناسایی گونه‌های قارچی به روش اشاره شده در بالا انجام شد. فراوانی جداسازی هر قارچ به صورت درصد و با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید

$$X = \left(\frac{x}{25}\right) \times 100$$

که در آن X درصد فراوانی ظهور هر قارچ و x تعداد کلنی ظاهر شده آن قارچ می‌باشد.

آزمایش سال دوم

در سال دوم آزمایش، 64 پاکت محتوی 320 قطعه ریشه آلوده سویا تهیه شد. در این سال اثر عمق دفن، حذف شده و به منظور بررسی تاثیر قارچ *T. harzianum* بر جمعیت قارچ *M. phaseolina* در بقایای گیاهی مدفون شده در خاک، زادمایه جدایه MKR1321 قارچ *T. harzianum* (جداشده از خاک مزرعه سویای شهرستان گرگان- استان گلستان) روی برنج سترون تهیه و با غلظت 10^8 اسپور در میلی‌لیتر به خاک اضافه گردید. پاکت‌ها در تاریخ 15 آبان ماه سال 1389 در میکروپلات‌هایی مشابه سال قبل، مدفون شدند. تیمارها شامل خاک آلوده به *M. phaseolina* و خاک سترون (خاک مزرعه که دوبار در فاصله زمانی 24 ساعت اتوکلاو

Archive of SID

www.SID.ir

گردید)، همراه با *T. harzianum* (+T) یا بدون اضافه کردن آن (-T) بودند. نمونه‌برداری در فواصل زمانی دوماهه بعد از دفن نمونه‌ها (از 15 دی 89 تا 15 تیرماه 90) انجام شد. مانند سال گذشته، نمونه‌ها کشت شده و گونه‌های قارچی شناسایی و درصد فراوانی جداسازی هر گونه با استفاده از معادله فوق محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش با چهار تکرار در قالب طرح اسپلیت فاکتوریل در دو سال اجرا شد. در سال اول، تاثیر نوع خاک (به عنوان عامل اصلی) و عمق مدفون‌سازی نمونه‌ها و زمان نمونه‌برداری (عوامل فرعی) بر درصد فراوانی جداسازی *M. phaseolina* و سایر قارچ‌های همراه بقایا مورد بررسی قرار گرفت. همچنین میانگین درصد فراوانی قارچ‌های جداسازی شده با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال یک درصد مقایسه گردید.

در سال دوم، تاثیر کاربرد و یا عدم کاربرد *T. harzianum* بر کاهش جمعیت *M. phaseolina* (عامل اصلی) و همچنین نوع خاک و زمان نمونه‌برداری (به عنوان عوامل فرعی) بر درصد فراوانی جداسازی *M. phaseolina* و سایر قارچ‌های همراه بقایا مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل‌ها با استفاده از نرم‌افزار *StatGraphics* 15.2.05 انجام شد.

نتایج و بحث

در بررسی بقایای گیاهی پیش از شروع آزمایش در سال اول و دوم به ترتیب 11 و 10 جنس قارچی به دست آمد و همه آن‌ها در مراحل بعدی نیز از بقایا جداسازی شدند که نشان می‌دهد از ابتدا همراه بقایای گیاهی بوده‌اند. در هر دو سال، *M. phaseolina* به ترتیب با فراوانی جداسازی 93/3 و 80 درصد بیشترین فراوانی را به خود اختصاص داد. پس از آن *Fusarium* spp. با فراوانی 49/3 و 41/83، *Gliocladium* spp. با فراوانی 23/1 و 17/67 و *Phomopsis* sp. با فراوانی 13/3 و 10/7 درصد (به ترتیب برای دو سال)، از قطعات ریشه و ساقه، جداسازی شدند. بیش از 32 درصد از کل جدایه‌های قارچی در سال اول و 33/3 درصد از آن‌ها در سال دوم مربوط به گونه‌های مهم قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی شامل *Fusarium* spp.، *Sclerotinia* sp.، *Rhizoctonia* sp. و *Phomopsis* sp. بودند. همچنین در دوره هشت‌ماهه اجرای آزمایش در سال اول، بیش از 20 گونه قارچی جداسازی و شناسایی شد که نه جنس آن پیش از شروع آزمایش از قطعات ساقه و ریشه جداسازی نشده بودند. این گونه‌ها بعد از دفن بقایا و در مراحل بعدی با فراوانی‌های متفاوت از بقایای گیاهی جدا شدند که نشان می‌دهد این گونه‌ها از خاک به روی بقایا انتقال یافته‌اند. تفاوت در فراوانی جداسازی برخی از قارچ‌ها از دو نوع خاک، نشان دهنده وجود تفاوت در جمعیت میکروبی آن‌هاست. همچنین تا انتهای آزمایش در سال دوم، بیش از 15 گونه قارچی جداسازی و شناسایی گردید که پنج گونه آن پیش از شروع آزمایش از قطعات ساقه و ریشه جداسازی نشده بودند.

آزمایش سال اول

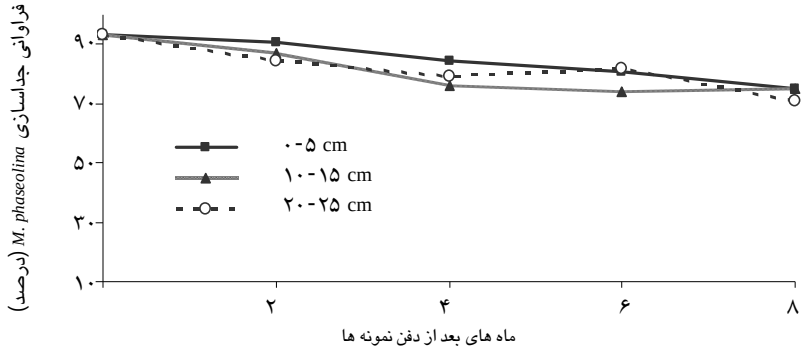
هر دو نوع خاک آلوده و غیرآلوده، از نوع لوم‌شنی و با pH=6/4-6/9 بودند. بر اساس مشاهدات ماکروسکوپی وضعیت بقایا پس از خروج از خاک، تا دو ماه بعد از شروع آزمایش علائم مشخصی از پوسیدگی در آن‌ها مشاهده نگردید. اولین علائم پوسیدگی شامل جدا شدن و خرد شدن لایه اپیدرم و گاهی از بین رفتن آن در هر دو نوع خاک در اسفند ماه دیده شد. پس از آن، در مرحله سوم نمونه‌برداری در اردیبهشت ماه، شکسته شدن برخی از قطعات ریشه و ساقه سویا درون پاکت‌ها مشاهده گردید. اما پوسیدگی و خرد و ریز شدن کامل بقایا و تخریب کامل بافت‌های ریشه و ساقه تا انتهای آزمایش مشاهده نشد. مطالعه برد و همکاران (2003) نیز نشان داد که بقایای ریشه سویا بعد از شش ماه شکسته شده و بعد از چهارده ماه به طور کامل خرد و ریز می‌شوند.

علی‌رغم اینکه درصد فراوانی جداسازی *M. phaseolina* طی زمان، روند کاهشی خطی داشت، اما این کاهش تفاوت معنی‌داری($P<0/01$) در دو نوع خاک نداشت. همچنین فراوانی جداسازی قارچ *M. phaseolina*

Archive of SID

www.SID.ir

در عمق 5-0 سانتی‌متر (84/82 درصد) تا حدودی بیشتر از دو عمق دیگر (به ترتیب 80/83 و 81/83 درصد) بود. اما جدول تجزیه واریانس نشان داد که عمق، تاثیر معنی‌داری (P <0/01) بر فراوانی جداسازی قارچ ندارد (شکل 1).



شکل 1- فراوانی جداسازی قارچ *M. phaseolina* از بقایای گیاهی سویای مدفون شده در اعماق مختلف خاک طی دوره زمانی هشت‌ماهه در سال زراعی 89-88

اگرچه جمعیت عوامل تجزیه‌کننده بقایای گیاهی و در نتیجه میزان پوسیدگی بقایا در اعماق خاک، به علت دسترسی به رطوبت بیشتر و وجود دمای نسبتا پایدار، بیشتر از سطح خاک است، اما مطالعه بر روی بقایای کلزای آلوده به *L. maculans* نیز نشان داد که عمق دفن بقایا تاثیری بر فراوانی جداسازی بیمارگر ندارد (برد و همکاران 1999). برخلاف آن، فراوانی جداسازی *R. solani* AG-4 از پوسته بادام زمینی در سطح خاک بیشتر از پوسته‌های مدفون در خاک است (برد و همکاران 1993). هم‌چنین مطالعات برد و همکاران (2003) روی بقایای سویا نشان داده است که فراوانی جداسازی *M. phaseolina* در سطح خاک بیشتر از اعماق 7/6 و 25/4 سانتی‌متر است. البته در آن مطالعه بقایای گیاهی به طور کامل در سطح خاک قرار داشتند در حالی که در بررسی حاضر بقایای گیاهی زیر لایه نازکی از خاک و در عمق 5-0 سانتی‌متری قرار گرفته بودند. مطالعه شورت و همکاران (1980) نیز نشان داده است که علی‌رغم بالاتر بودن جمعیت *M. phaseolina* در بقایای گیاهی موجود در سطح خاک، دفن بقایای سویا در اعماق کمتر از 20 سانتی‌متر تاثیری بر کاهش جمعیت اسکلرت‌های قارچ در بقایا نداشت.

در این مطالعه فراوانی جداسازی *M. phaseolina* طی زمان، روند کاهشی خطی داشت اما فراوانی جداسازی آن پس از هشت ماه، تنها 19/7 درصد (از 93/3 به 73/6) کاهش یافت (جدول 1) و تا انتهای آزمایش از بقایای گیاهی مدفون در خاک جداسازی شد. در حالی که در مطالعه مشابه روی بقایای سویا که در امریکا انجام شد، فراوانی جداسازی این قارچ پس از هشت ماه 80/7 درصد و پس از 14 ماه، 90/7 درصد کاهش یافته است (برد و همکاران 2003). تفاوت در شرایط محیطی، جمعیت میکروبی ساپروفیت و ژنوتیپ میزبان و بیمارگر، می‌تواند در بروز اختلاف در بقای قارچ بین این دو آزمایش دخیل باشد.

قارچ *M. phaseolina* در شرایط خشک و زمانی که رطوبت محیط، کم باشد فعالیت بیشتری دارد و بر سایر قارچ‌های موجود در بقایای گیاهی غلبه می‌کند (وایلی 1989). اگرچه میزان بارندگی تجمعی در دوره مورد بررسی در مطالعه حاضر (332 میلی‌متر) بیشتر از میزان بارندگی در مطالعه برد و همکاران (2003) بوده است، اما میزان پوسیدگی و کاهش فراوانی جداسازی *M. phaseolina* از بقایای گیاهی، کمتر از مقدار مورد انتظار بود.

Archive of SID
www.SID.ir

در بررسی دو ساله برد و همکاران (2003)، قارچ *Trichoderma* spp. بیشترین فراوانی را در کل دوره مورد بررسی و کل تیمارها دارد. جمعیت این قارچ که در شروع آزمایش آن‌ها نسبتا پایین بود (1/6 درصد)، به سرعت افزایش یافته و بعد از هشت ماه به 27/6 درصد و پس از 14 ماه به 60/8 درصد می‌رسد. *Trichoderma* spp. قادر است به سرعت بقایای گیاهی میزبان‌های مختلف را که در تماس با خاک قرار دارند کلونیزه نماید (برد و همکاران 1999). این قارچ با تولید آنزیم سلولاز، سلولز و همی‌سلولز موجود در دیواره سلول‌های گیاهی را تخریب می‌کند (هارمن 2000). تجزیه منابع غذایی توسط *Trichoderma* spp. سبب محدود کردن و کاهش جمعیت گونه‌های مختلف قارچی می‌گردد. از طرف دیگر خاصیت مایکوپارازیتی آن روی بیمارگرهای مهم گیاهی مانند *Fusarium*، *Pythium* و *Rhizoctonia* spp نیز به اثبات رسیده است (هارمن 2000، هوبارد و همکاران 1983).

در ابتدای این مطالعه *Trichoderma* spp. از 2/66 درصد بقایای ریشه و ساقه سویا، جداسازی شد. فراوانی جداسازی آن طی زمان، به صورت خطی و به کندی افزایش یافته و پس از هشت ماه به 8/66 درصد رسید. فراوانی جداسازی این قارچ تفاوت معنی‌داری ($P<0/05$) در اعماق مختلف خاک و بین دو نوع خاک نشان نمی‌دهد (جدول 1). اگرچه کاهش درصد جداسازی *M. phaseolina* از بقایا را می‌توان به تجزیه و تخریب نسبی بقایای گیاهی و وجود جمعیت‌هایی از قارچ‌های آنتاگونیست بالقوه مانند *Trichoderma* spp. و *Gliocladium* spp. نسبت داد، اما فراوانی جداسازی *Trichoderma* spp. در این آزمایش آشکارا پایین‌تر از آزمایش برد و همکاران (2003) است و وجود این اختلاف فاحش بین دو آزمایش، احتمالا مربوط به همین مساله می‌باشد.

جمعیت گونه‌های مختلف *Fusarium* spp. تا اردیبهشت‌ماه به صورت خطی کاهش و سپس افزایش یافت و هم‌چنان در سطح بالایی نسبت به سایر قارچ‌ها قرار داشت. توانایی *Fusarium* spp. در رشد و استقرار سریع، اسپوردهی فراوان و تخریب بقایای گیاهی (دومش و همکاران 1980) نیز می‌تواند تا حدودی بر کاهش فراوانی جداسازی *M. phaseolina* از بقایای گیاهی موثر باشد. کاهش کلونیزاسیون بقایای کلزا توسط *L. maculans* همراه با افزایش جمعیت *Fusarium* spp. روی بقایای گیاهی گزارش شده است (ناصری و همکاران 2008). هم‌چنین فراوانی جداسازی *Gliocladium* spp. به طور خطی و درجه دو افزایش یافت. اما اختلاف معنی‌داری در دو فاز انتهایی نمونه‌برداری نداشت (جدول 1). پیروی از تابع درجه دوم به علت کاهش جزئی آن در دی‌ماه و سپس افزایش آن در مراحل بعد می‌باشد.

در مجموع همه تیمارها، گونه‌های مختلف *Fusarium* و *Gliocladium* به ترتیب با میانگین فراوانی کل 26/98 و 26/61، بعد از *M. phaseolina* (با میانگین فراوانی کل 82/49 درصد) در رتبه دوم قرار گرفتند. در واقع این دو قارچ قادرند، پس از این‌که بقایای گیاهی توسط قارچ‌های تجزیه‌کننده سلولز مانند *Sclerotinia* sp.، *Rhizoctonia* sp. و *Trichoderma* spp. تا حدی مورد تجزیه قرار گرفت، به عنوان کلونیزه‌کنندگان ثانویه از آن استفاده نمایند (برد و همکاران 1999). به‌همین دلیل فراوانی آن‌ها تا انتهای آزمایش هم‌چنان بیشتر از سایر گونه‌ها بود. هم‌چنین عمق دفن، اثر معنی‌داری ($P <0/01$) بر فراوانی جداسازی این دو قارچ ندارد.

گونه‌های *Alternaria* که معمولا به صورت ساپروفیت روی بسیاری از میزبان‌های گیاهی یافت می‌شوند، با فراوانی 5/33 درصد در ابتدای آزمایش از بقایای سویا جداسازی شدند. فراوانی این قارچ تفاوت معنی‌داری ($P<0/05$) در دو خاک داشت (جدول 1) اما در هر دو تیمار به‌جز افزایش در ماه اسفند، در سایر مراحل نمونه‌برداری، روند کاهشی کلی نشان داد.

قارچ *Phomopsis* sp. که یکی از گونه‌های بیمارگر سویا بوده و عامل بلایت ساقه و غلاف سویا می‌باشد نیز در ابتدای آزمایش از 13/33 درصد نمونه‌ها جداسازی شد. فراوانی جداسازی این قارچ به طور کلی در مرحله انتهایی آزمایش نسبت به شروع آن، کاهش 12 درصدی را نشان می‌دهد (جدول 1). چنان‌چه گفته شد این روند کاهشی می‌تواند مربوط به افزایش کلونیزاسیون و مصرف مواد غذایی توسط قارچ‌های مختلف و یا مایکوپارازیتیسم توسط *Trichoderma* spp. باشد. روند کاهشی مشابهی در مطالعه برد و همکاران (2003) گزارش شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 1 - درصد فراوانی جداسازی قارچ‌های مختلف از بقایای سویای آلوده به پوسیدگی ذغالی که به مدت هشت ماه در اعماق مختلف دو خاک آلوده و غیر آلوده مدفون شده‌اند

		ماه‌های بعد از دفن بقایای سویا						
گونه قارچ	نوع خاک [الف]	0	2	4	6	8	L [ب]	Q [پ]
M. phaseolina	NS	93/3 a	86/95 b	79/72 c	78/88 cd	73/61	**	**
Alternaria spp.	آلوده	5/33 a	0 c	2/78 b	0 c	0 c	*	*
	غیرآلوده	5/33 a	2/22 b	5/56 a	3/33 a	1/33 b		
Aspergillus spp.	NS	0 b	0 b	0/56 b	1/11 b	3/89 a	**	**
Bipolaris spp.	NS	0 a	0 a	0/27 a	0 a	0 a	NS	NS
Cephalosporium sp.	آلوده	6/67 a	0/28 b	1/67 b	5/28 a	1/94 b	NS	**
	غیرآلوده	7/23 a	0/56 b	1/11 b	10/56 a	1/67 b		
Fusarium spp.	NS	49/3 a	23/ 61 b	21/11 b	19/45 b	21/45b	**	**
Gliocladium sp.	NS	23/06b	18/06 b	29/16 b	39/17 a	41/94 a	**	**
Mucor sp.	NS	0 b	2/50 a	0/56 b	0/28 b	1/11ab	NS	NS
Penicillium spp.	NS	0 b	0 b	0 b	0 b	3/33 a	**	**
Periconia sp.	آلوده	0 c	0 c	1/67 b	2/78 b	4/44 a	**	**
	غیرآلوده	0 b	0 b	0 b	0/56 a	0 b		
Phialophora sp.	NS	0 b	0 b	2/22 a	0 b	0 b	NS	NS
Phomopsis sp.	NS	13/33a	0/83 c	0/56 c	2/22 b	1/11bc	**	**
Rhizoctonia sp	NS	1/33 b	0/84 b	3/33 a	0/28 b	0/99 b	NS	NS
Rhizopus sp.	NS	9/99 a	2/50 c	2/78 c	4/44 bc	6/61 a	NS	**
Sclerotinia sp.	NS	2/5 c	18/06 a	9/45 b	6/11 bc	5/56 bc	NS	*
Torula sp.	آلوده	0a	0 a	0 a	0a	0a	NS	NS
	غیرآلوده	0 b	1/67 a	1/12 a	1/67 a	0 b		
Trichoderma spp.	NS	2/66 b	3/06 ab	2/78 b	3/88 ab	8/66 a	*	NS
Ulocladium spp.	NS	0 a	0 a	0/56 a	0 a	0 a	NS	NS
Unknown Fungi	NS	3/5 b	5 b	15/83 a	4/44 b	6/82 b	NS	*
Verticillium sp.	NS	0 a	0/28 a	0 a	0 a	0 a	NS	NS

الف- NS تفاوت معنی‌داری بین دو نوع خاک وجود ندارد. در صورت معنی دار بودن ($P<0/05$) فراوانی جداسازی برای هر نوع خاک جداگانه آورده شده است.

ب- روند تغییرات خطی (Linear response) و پ- درجه‌ی دو (Quadratic response). NS معنی‌دار نیست ($P<0/05$)، * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

حروف مشترک نشان‌دهنده نبود اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارها است.

اعداد ارائه شده برای دو تیمار خاک، در هر زمان، مربوط به میانگین سه عمق دفن می‌باشند.

دو بیمارگر مهم گیاهی دیگر شامل *Sclerotinia* sp. و *Rhizoctonia* sp. نیز با مجموع فراوانی کمتر از چهار درصد در فاز صفر آزمایش جداسازی شدند. فراوانی جداسازی *Rhizoctonia* sp. دستخوش نوسانات فراوانی طی زمان شد و در نتیجه از توابع خطی و درجه دوم پیروی نکرد. اما روند تغییرات فراوانی جداسازی *Sclerotinia* sp. از تابع درجه دو پیروی کرده و ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت، اما جمعیت آن در انتهای آزمایش، کمتر از میزان جداسازی شده در ابتدای آزمایش نبود. *Verticillium* sp. نیز که در ابتدای آزمایش از بقایا جداسازی نشده بود تنها در ماه دی و با میانگین فراوانی 0/28 درصد مشاهده گردید و تفاوت معنی‌داری در دو نوع خاک نداشت (جدول 1).

قارچ *Periconia* sp.، که جزء تجزیه‌کنندگان قوی کیتین و زایلان می‌باشد (دومش و همکاران 1980) و در ابتدای آزمایش از بقایای گیاهی استخراج نشده بود، در خاک

Archive of SID

www.SID.ir

آلوده به میکرواسکلرت‌های *M. phaseolina*، در اسفندماه با فراوانی 1/67 درصد جداسازی شد و فراوانی آن تا انتهای آزمایش، به صورت خطی و درجه دو، به میزان 2/77 درصد افزایش یافت (جدول 1). در حالی که قارچ *Ulocladium* spp. که قادر به تجزیه مواد گیاهی مانند سلولز می‌باشد (دومش و همکاران 1980)، با فراوانی ناچیزی جداسازی گردید که نشان‌دهنده قدرت رقابتی ضعیف‌تر آن می‌باشد. نتایج مشابهی توسط ناصری و همکاران (2008) در بررسی بقای *L. maculans* روی بقایای کلزا گزارش شده است.

مقایسه نتایج این مطالعه با مطالعه‌های دیگر روی بقایای گیاهی میزبان‌های مختلف مدفون در خاک، نشان می‌دهد که نقش ترکیبی *Trichoderma* spp. به‌عنوان یک مایکوپارازیت و نیز تجزیه‌کننده قوی مواد سلولزی می‌تواند سبب کاهش بقای بیمارگرهای گیاهی از جمله *M. phaseolina* گردد. به منظور اثبات این مساله آزمایش سال دوم با افزودن سوسپانسیون زادمایه *Trichoderma* spp. به خاک، به عنوان یک تیمار اضافی طراحی شد.

آزمایش سال دوم

در این آزمایش نیز از دو خاک لوم‌شنی با pH=6/6-6/8 استفاده گردید. بررسی میزان تخریب و پوسیدگی بقایای گیاهی نشان داد که در تیمار T+ بقایای ریشه و ساقه سویا با شدت و سرعت بیشتری تخریب شدند به‌طوری‌که در فاز دوم نمونه‌برداری (15 اسفندماه) علائم شکسته شدن قطعات بقایای گیاهی درون پاکت‌ها مشاهده و در انتهای نمونه‌برداری کلیه قطعات ریشه و ساقه سویا در این تیمار به طور کامل خرد شده و بافت گیاهی تا حدود زیادی تخریب گردید. اما در تیمار T– مانند سال گذشته پوسیدگی و خرد و ریزشدن کامل بقایا و تخریب کامل بافت‌های ریشه و ساقه تا انتهای آزمایش مشاهده نشد.

نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که سترون یا آلوده بودن خاک به میکرواسکلرت‌های *M. phaseolina*، تاثیر معنی‌داری ($P<0/01$) بر فراوانی جداسازی این قارچ از بقایای سویای مدفون در خاک نداشت. فراوانی جداسازی این قارچ طی زمان، روند کاهشی خطی و درجه دو داشته و فراوانی جداسازی آن در مجموع تیمارها، پس از هشت ماه، 48/33 درصد (از 80 به 31/7 درصد) کاهش یافت.

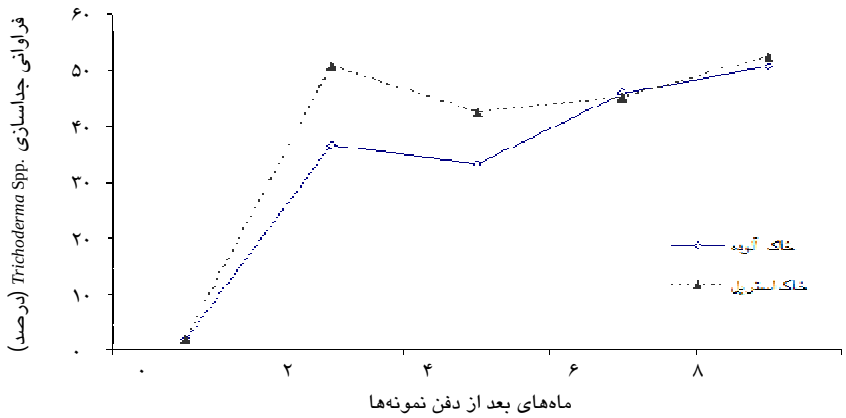
وجود اختلاف معنی‌دار ($P<0/05$) در فراوانی جداسازی گونه‌های *Aspergillus* spp.، *Penicillium* spp. و *Periconia* spp. از دو نوع خاک سترون و غیرسترون و عدم جداسازی آن‌ها از بقایای گیاهی پیش از مدفون‌سازی، نشان می‌دهد که منشاء این گونه‌ها خاک آلوده بوده و در مراحل بعدی آزمایش از خاک به بقایای گیاهی انتقال یافته‌اند.

نتایج آزمایش نشان داد، که فراوانی جداسازی *T. harzianum* که در ابتدای آزمایش تنها 1/07 درصد کل گونه‌های جداشده را تشکیل می‌داد، تحت تاثیر افزودن مصنوعی زادمایه آن به خاک، طی زمان به سرعت افزایش یافت و پس از هشت‌ماه، از جمعیت اولیه 1/83 درصد پیش از دفن بقایا، به 50/83 و 52/49 درصد، به ترتیب در خاک‌های غی سترون و سترون می‌رسد. هم‌چنین سترون بودن یا نبودن خاک تاثیر معنی‌داری ($P<0/05$) بر فراوانی جداسازی *T. harzianum* داشت (شکل2). فراوانی این قارچ در مرحله دوم نمونه‌برداری، در خاک سترون بیشتر از خاک آلوده بود. این مساله احتمالا به علت اثر رقابتی سایر میکروارگانیسم‌ها در خاک غیر سترون می‌باشد. اما سرعت بالای رشد میسلیومی، تولید اسپورهای فراوان و جوانه‌زنی سریع اسپورها که از قابلیت‌های رقابتی *T. harzianum* محسوب می‌شود (هارمن 2000)، سبب می‌گردد این اختلاف به تدریج کاهش یافته، به‌طوری که شش ماه بعد از دفن بقایا، فراوانی جداسازی آن از دو خاک تقریبا برابر شود.

فراوانی جداسازی *Trichoderma* spp. از بقایای گیاهی طی زمان، در تیمار T+ به سرعت افزایش یافت. اگرچه این روند افزایشی به‌تدریج کندتر شد اما گونه‌های *Trichoderma* spp. پس از گذشت هشت ماه از دفن بقایا، از حدود 95 درصد نمونه‌ها جداسازی گردید (جدول 2). در حالی که در تیمار T- همانند سال اول اجرای آزمایش روند افزایشی جداسازی آن بسیار کند بوده و در انتهای آزمایش تنها از 8/33 درصد نمونه‌ها جداسازی گردید.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل 2- روند تغییرات فراوانی *Trichoderma* spp. جداشده از بقایای گیاهی طی زمان تحت تاثیر سترون یا غیرسترون بودن خاک

افزودن زادمایه *T. harzianum* به خاک، تاثیر معنی‌داری (P<0/05) بر فراوانی جداسازی *M. phaseolina* داشت (جدول 2). در تیمار T- فراوانی جداسازی *M. phaseolina* پس از هشت ماه تنها 11/17 درصد کاهش یافت (از 80 درصد به 68/83 درصد). در حالی که در تیمار T+ این میزان برابر 77/5 درصد بود. در این تیمار فراوانی *M. phaseolina* پس از هشت ماه به 2/5 درصد رسید. فراوانی جداسازی *M. phaseolina*، در فاز دوم نمونه‌برداری، در تیمار T+ به یک‌باره کاهش می‌یابد (شکل 3). این کاهش ناگهانی و شدید به‌موازات افزایش ناگهانی در فراوانی جداسازی *T. harzianum* از بقایا در فاز دوم نمونه‌برداری بود (شکل2). پس از آن، افزایش جمعیت *T. harzianum* روند کندتری داشت و به همین ترتیب فراوانی جداسازی *M. phaseolina*، از خاک نیز نسبتا یکنواخت شده و با سرعت کندتری کاهش یافت.

بررسی‌ها نشان می‌دهند که جمعیت گونه‌های *Trichoderma*، بعد از اضافه شدن به خاک، برای مدتی ثابت می‌ماند و سپس رو به کاهش می‌گذارد. این پدیده، احتمالا تحت تاثیر شرایط نامناسب خاک رخ می‌دهد (پاپاویزاس 1981). لویس و پاپاویزاس (1984) نشان دادند که استقرار و تکثیر *Trichoderma* spp. در خاک به نحوه کاربرد آن بستگی دارد و هنگامی که روی سبوس گندم تکثیر و به خاک اضافه گردد، جمعیت آن تا یک میلیون برابر تکثیر می‌شود و 9 تا 36 هفته در خاک باقی می‌ماند. هر چند که جمعیت آن به تدریج کاهش می‌یابد. تحقیقات نشان داده است که شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک بر بقا و روند تغییرات جمعیت تریکودرما موثر است (آهون‌منش 1379).

فراوانی جداسازی گونه‌های دو جنس *Gliocladium* و *Fusarium* از بقایای گیاهی در تیمار T+ به صورت درجه دو و با سرعت کاهش یافت به‌طوری که در انتهای آزمایش به صفر رسید. به‌جز این دو جنس که تا فاز سوم نمونه‌برداری از تیمار مذکور جداسازی شدند، سایر گونه‌های قارچی، تنها پیش از دفن بقایا از آن‌ها جداسازی و استخراج آن‌ها در تیمار T+ از فاز دوم نمونه‌برداری متوقف گردید. این نتایج نشان می‌دهد که *T. harzianum*، قادر است با رشد و اسپوردهی سریع و قدرت رقابتی بالا، بقایای گیاهی را کلونیزه کرده و ضمن بهره‌بردن از خاصیت مایکوپارازیتی قوی، با مصرف مواد غذایی موجود، مانع از رشد و توسعه قارچ‌های مهم بیماری‌زای گیاهی مانند *Fusarium* spp.، *Phomopsis* spp.، *Rhizoctonia* spp. و *M. phaseolina* گردد. کاربرد این قارچ در کنترل زیستی گونه‌های مختلف قارچ‌های خاک‌زاد گزارش شده است (پاپاویزاس و لومسن 1980).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول 2- درصد فراوانی جداسازی قارچ‌های مختلف از بقایای سویای آلوده به پوسیدگی ذغالی مدفون در خاک مایه‌زنی شده با *T. harzianum* و بدون آن

گونه قارچ	*T. harzianum*	ماه‌های بعد از دفن بقایای سویا					L ب	Q پ
		0	2	4	6	8		
M. phaseolina	-T الف	80 a	77/49 b	75 b	71/67 c	68/83 c	**	**
	+T	80 a	11/67 b	10 b	5/02 c	2/5 d		
Alternaria spp.	-T	6/13 a	2/5 b	0/84 c	0/83 c	0/83 c	**	**
	+T	6/13 a	0 b	0 b	0 b	0 b		
Aspergillus spp.	-T	0	0	5 a	3/33 b	3/33 b	NS	NS
	+T	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a		
Curvularia sp.	NS	0 a	0 a	0/42 a	0 a	0 a	NS	NS
Fusarium spp.	-T	41/83 a	34/17 b	30/83 b	25 c	28/5 c	*	**
	+T	41/83 a	7/50 b	0/83 c	0 d	0 d		
Gliocladium spp.	-T	17/67 ab	8/33 c	14/17 b	23/89 a	18/89 ab	*	**
	+T	17/67 a	2/5 b	0/8 c	0 c	0 c		
Mucor sp.	NS	0 a	0/83 a	0/42 a	0 a	0/42 a	NS	NS
Penicillium spp.	NS	0 b	0/83 ab	0/83 ab	1/25 a	1/25 a	NS	NS
Periconia spp.	-T	0 b	0/83 b	0/83 b	1/67 a	1/67 a	NS	NS
	+T	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a		
Phomopsis spp.	-T	10/7 a	2/5 b	1/67 b	0 c	0 c	**	**
	+T	10/7 a	0 b	0 b	0 b	0 b		
Rhizoctonia spp	-T	2/67 b	5 a	3/33 a	3/33 a	1/67 b	NS	NS
	+T	2/67 a	0 b	0 b	0 b	0 b		
Rhizopus spp.	NS	3/5 b	5/42 b	8/75 a	8/75 a	11/25 a	**	**
Sclerotinia spp.	NS	1/33 a	0/42 b	0 b	0 b	0 b	**	**
Trichoderma spp.	-T	1/83 b	5 ab	4 ab	5 ab	8/33 a	**	**
	+T	1/83 c	82/5 ab	71/67 b	84/99 ab	94/99 a		
Unknown Fungi	-T	4 a	2/5 b	0/83 c	1/67 b	1/25 bc	NS	*
	+T	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a		

الف- NS تفاوت معنی‌داری بین دو تیمار T+ و T- وجود ندارد، در صورت معنی‌دار بودن (P<0/05) فراوانی جداسازی برای دو تیمار جداگانه آورده شده است.

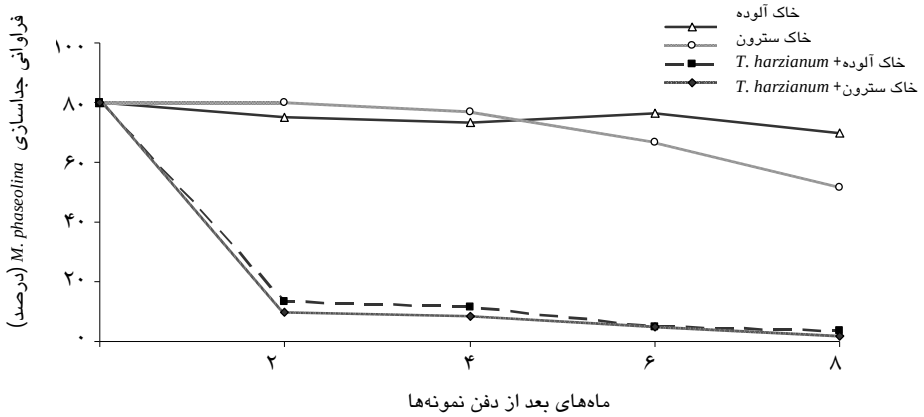
ب- روند تغییرات خطی و **پ -** درجه دو را نشان می‌دهد. NS معنی‌دار نیست (P<0/05)، * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

حروف مشترک نشان‌دهنده نبود اختلاف معنی‌دار آماری بین تیمارها است.

اعداد ارائه شده برای دو تیمار T+ و T- ، در هر زمان، مربوط به میانگین دو نوع خاک می‌باشند.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل 3- روند تغییرات فراوانی *M. phaseolina* جدا شده از بقایای سویا طی زمان، تحت تاثیر افزودن *T. harzianum* در دو خاک سترون و غیرسترون در مقایسه با شاهد بدون *T. harzianum*

کاربرد این عامل کنترلی در زیست‌کنترل بیماری پوسیدگی ذغالی میزبان‌های مختلف گزارش شده است. تحقیقات اعتباریان (2006) نشان داده است که کاربرد *T. harzianum*، از تشکیل اسکلرت‌های *M. phaseolina* روی بذر خربزه جلوگیری می‌نماید. غفاریان (1379)، نیز از جدایه‌های تریکودرما برای کنترل‌زیستی بیماری ساق سیاه خربزه استفاده نمود. هم‌چنین اثر جدایه‌های تریکودرما در کاهش بیماری پوسیدگی ذغالی آفتابگردان (براری و همکاران 1385)، بادمجان (رمضانی 2008)، کنجد (عبدل‌ستار و همکاران 2006)، سویا (بل 2002)، لوبیای چشم بلبلی (ادکونل و همکاران 2006)، پنبه (عبدالسلام 2010) نیز گزارش شده است. اما کاربرد این عامل زیست‌کنترل بر بقای میکرواسکلرت‌های *M. phaseolina* در بقایای گیاهی مورد بررسی قرار نگرفته است.

در این تحقیق، مایه‌زنی خاک با زادمایه عامل کنترل زیستی *T. harzianum* توانست فراوانی جداسازی بیمارگر خاک‌زاد *M. phaseolina* را از بقایای ریشه و ساقه سویا، پس از هشت ماه به میزان 77/5 درصد کاهش دهد. البته میزان آزادسازی میکرواسکلرت از بقایای گیاهی و جمعیت میکرواسکلرت‌های موجود در خاک بعد از دفن بقایای گیاهی و در مراحل مختلف نمونه‌برداری مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین نمی‌توان به‌طور قطع اظهار نمود که آیا میکرواسکلرت‌های آزاد شده از بقایا، قدرت جوانه‌زنی خود را حفظ نموده‌اند و یا در اثر کلونیزاسیون توسط *T. harzianum* و یا ترشحات فرار و غیرفرار آن، قدرت جوانه‌زنی و آلوده‌سازی خود را از دست داده‌اند. بنابراین تحقیقات بیشتری در این زمینه مورد نیاز است.

سپاسگزاری

از همکاری دکتر کامران رهنما، عضو هیات علمی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، در تهیه جدایه قارچ *T. harzianum* صمیمانه قدردانی می‌شود.

منابع

آهون‌منش ع، 1379. اصول مبارزه با بیماری‌های گیاهی. چاپ سوم. مرکز نشر دانشگاه صنعتی اصفهان.

براری ح، بهبودی ک، رستمی ف و کیانوش ح، 1385. کنترل بیولوژیک بیماری پوسیدگی ذغالی آفتابگردان با استفاده

Archive of SID
www.SID.ir

از قارچ‌های آنتاگونیست در آزمایشگاه. جلد دوم. صفحه 246. خلاصه مقالات هفدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، کرج.

غفاریان ا، 1379. مبارزه‌ی بیولوژیک با عامل بیماری ساق سیاه خربزه توسط قارچ‌های آنتاگونیست تریکودرما و گلیوکلادیوم. پایان‌نامه کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی-گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه اهواز.

Abd-Elsalam KA, 2010. Genetical and biological control of cotton ashy stem caused by *Macrophomina phaseolina* in outdoor pot experiment. Saudi Journal of Biological Sciences 17: 147–152.

Abdul Sattar MH, Salem AM and Bayounes AA, 2006. Physical and biological control of charcoal root rot in sesame caused by *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. Arab Journal of Plant Protection 24(1): 37-40.

Adekunle1 AT, Ikotun T, Florini DA and Cardwell KF, 2006. Field evaluation of selected formulations of *Trichoderma* species as seed treatment to control damping-off of cowpea caused by *Macrophomina phaseolina.* African Journal of Biotechnology 5 (5): 419-424.

Baird RE, Bell DK, Sumner DK, Mullinix BG and Culbreath AK, 1993. Survival of *Rhizoctonia solani* AG-4 in residual peanut shells in soil. Plant Disease 77: 973-975

Baird RE, Phillip DV, Mullinix BG and Alt PJ, 1999. Relative longevity of *Leptosphaeria maculans* and associated mycobiota on canola debris. Phytoprotection 80: 1-11.

Baird RE, Watson CE and Scruggs M, 2003. Relative longevity of *Macrophomina phaseolina* and associated mycobiota on residual soybean roots in soil. Plant Disease 87: 563-566.

Barnett, HL, and Hunter BB, 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. APS Press, St. Paul, MN.

Bell SL, 2002. Seed treatment techniques for biological control agents in the control of charcoal rot of soybean. MSc. Thesis, Mississipi State University.

Cook GE, Boosalis MG, Dunkle LD and Odvody GN, 1973. Survival of *Macrophomina phaseolina* in corn and sorghum stalk residue. Plant Disease Reporter 57: 873-875.

Dhingra OD and Sinclair JB, 1977. An annotated bibliography of *Macrophomina phaseolina*, 1905–1975. Imprensia Universitaria, Universidade Federal de Vicosa, Vicosa, Brazil.

Domsch KH, Gams W and Anderson TH, 1980. Compendium of Soil Fungi. London, UK, Academic Press Ltd.

Ellis MB, 1971. Dematiaceous Hyphomycetes. 1st ed. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK.

Ellis MB, 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. 1st ed. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, UK.

Etebarian HR, 2006. Evaluation of *Trichoderma* isolates for biological control of charcoal stem rot in melon caused by *Macrophomina phaseolina***.** Journal of Agricultural Science and Technology 8: 243-250

Harman GE, 2000. The myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* strain T-22. Plant Disease 84: 377-393.

Hubbard JP, Harman GE and Hadar Y, 1983. Effect of soilborne *Pseudomonas* spp. on the biological control agent, *Trichoderma hamatum*, on pea seeds. Phytopathology 73: 655-659.

Lewis JA and Papavizas GC, 1984. A new approach to stimulate population proliferation of *Trichoderma* species and other potential biocontrol fungi introduced into natural soils. Phytopathology 74: 1240-1244.

Naseri B, Davidson JA and Scott ES, 2008. Survival of *Leptosphaeria maculans* and associated mycobiota on oilseed rape stubble buried in soil. Plant Pathology 57: 280–289

Norton DC, 1953. Linear growth of *Sclerotium bataticola* through soil. Phytopathology 43: 633-636.

Papavizas GC, 1981. Survival of *T. harzianum* in soil and in pea and bean rhizosphere. Phytopathology 71: 121-125.

Papavizas GC and Lumsden RD, 1980. Biological control of soilborne fungal propagules. Annual Review of Phytopathology 18: 389-413.

Ramezani H, 2008. Biological control of root-rot of eggplant caused by *Macrophomina phaseolina.* American-Eurasian Journal of Agriculture and Environment Science 4(2): 218-220.

Roy KW, Baird RE and Abney TS, 2001. A review of soybean (*Glycine max*) seed, pod, and flower mycofloras in North America. Mycopathologia 150: 15-27.

Short GE, Wyllie TD and Bristow PR, 1980. Survival of *Macrophomina phaseolina* in soil and residue of soybeans. Phytopathology 70: 13-17.

Wyllie TD, 1989. Charcoal rot. Pp. 30-32 In: Sinclair JB and Backman PA, Compendium of Soybean Diseases, 3rd eds. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.

Archive of SID

www.SID.ir

Survival of *Macrophomina phaseolina* and Associated Mycobiota on Soybean Residuals and the Effect of *Trichoderma harzianum* on Their Population Dynamics

F Taliei[1], N Safaie*[2] and MA Aghajani[3]

[1]PhD Student, Dept of Plant Pathology, College of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[2]Associate Professor, Dept of Plant Pathology, College of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[3]Assistant Research Professor, Agriculture and Natural Resources Research Center of Golestan Province, Iran
* Corresponding author: nsafaie@modares.ac.ir

Received: 30 Jun 2012 Accepted: 11 Oct 2012

Abstract

Macrophomina phaseolina, the causal agent of soybean charcoal rot is an important pathogen in soybean growing regions of the world, including Iran. Survival of *M. phaseolina* and associated mycobiota on soybean residual was studied every two months over a eight-month period, for two years, under environmental conditions of Golestan province, Iran. In the first year, root segments colonized by *M. phaseolina* were placed into polypropylene-mesh bags and buried in depths of 0-5, 10-15, and 20-25 cm at *M. phaseolina* infected and uninfected soil in the field microplots. The percentage of isolation frequencies for *M. phaseolina* showed a slow decrease linear trend over time, from 93.3% before burial to 73.6 %, eight months later. *Trichoderma* spp. were isolated at positive slow linear trend and was increased 6% over time. Isolation frequencies of *M. phaseolina* were similar among the three soil depths over all sampling dates at both soil types. In the second year, mesh bags, included *M. phaseolina* colonized residual, were buried in the field microplots at infected and sterile soil treated with *Trichoderma harzianum* MKR 1321 inoculum, in comparison to untreated one. Percentage of isolation frequencies for *M. phaseolina* decreased 77.5% over time in *T. harzianum* treated soil compared to 11.2% in untreated soil regardless of soil type. Isolation frequencies of *Trichoderma* spp. was also increased 93.9% in treated soil. The increase of *Trichoderma* spp. paralleled with the decreasing in isolation frequencies of *M. phaseolina* and other fungi. These findings suggest that the combined role of *Trichoderma* spp. as strong tissue degraders and mycoparasites may lead to reduce the survival of the pathogen *M. phaseolina* and other associated fungi in burial debris.

Keyword: Soybean charcoal rot, *Macrophomina phaseolina*, *Trichoderma harzianum*

Archive of SID

www.SID.ir